# Detoxification of mycotoxins and resistance to fusarium head blight in cereals, from Brachypodium distachyon to bread wheat

Miriam Gatti, Philippe Leroy, Florence Cambon, Caroline C. Tassy, Thierry T. Langin, M. Dufresne

▶ **To cite this version:**

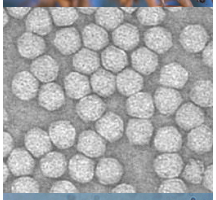
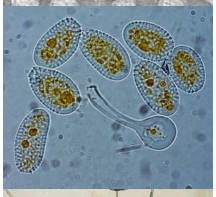
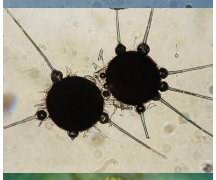
Miriam Gatti, Philippe Leroy, Florence Cambon, Caroline C. Tassy, Thierry T. Langin, et al.. Detoxification of mycotoxins and resistance to fusarium head blight in cereals, from Brachypodium distachyon to bread wheat. 9. colloque de la Société Française de Phytopathologie, 2015, 96 p., 2015, 9ème colloque de la Société Française de Phytopathologie. hal-02741627

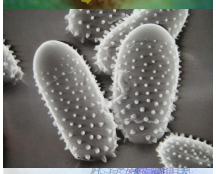
**HAL Id: hal-02741627**
**https://hal.inrae.fr/hal-02741627**

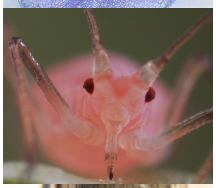
Submitted on 3 Jun 2020

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

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





Société Française de Phytopathologie

# 9ème colloque de la Société Française de Phytopathologie

## Livre des résumés

## Du 2 au 5 Juin 2015

## Colmar

*« La cité de Bartholdi »*

# 9e colloque de la Société Française de Phytopathologie

# Livre des résumés

**2 au 5 juin 2015**
**CREF, Colmar, Alsace**

# Les membres du comité local d'organisation

| | |
|---|---|
| Etienne HERRBACH | Olivier LEMAIRE |
| Thierno Ousmane BAH | Océane BOSSHARTH |
| Véronique BRAULT | Julie CHONG |
| Pascal FREY | Sylvie GERMAN-RETANA |
| Charles GREIF | Marie HERTH |
| Sylvie LEMAIRE | Cédric LUPETTI |
| Marie Laure MEYER | Michaël MULOT |
| Frédérique PELSY | Pascal VALENTIN |

# Les membres du comité scientifique

| | |
|---|---|
| Dominique BLANCARD | INRA Bordeaux |
| Véronique BRAULT | INRA Colmar |
| Agnès CALONNEC | INRA Bordeaux |
| Thierry CANDRESSE | INRA Bordeaux |
| Julie CHONG | UHA Colmar |
| Alia DELLAGI | AgroParisTech |
| Frédéric FABRE | INRA Bordeaux |
| Diana FERNANDEZ | IRD Montpellier |
| Pascal FREY | INRA Nancy |
| Sylvie GERMAN-RETANA | INRA Bordeaux |
| Clare GOUGH | CNRS-INRA Toulouse |
| Renaud IOOS | ANSES Nancy |
| Etienne HERRBACH | INRA Colmar |
| Emmanuel JACQUOT | INRA Montpellier |
| Olivier LEMAIRE | INRA Colmar |
| Charles MANCEAU | ANSES Angers |
| Didier MERDINOGLU | INRA Colmar |
| Pere MESTRE | INRA Colmar |
| Jean Benoît MOREL | INRA Montpellier |
| Cindy MORRIS | INRA Avignon |
| Christophe MOUGEL | INRA Rennes |
| Benoît MOURY | INRA Avignon |
| Xavier NESME | Université Lyon |
| Philippe REIGNAULT | Université du Littoral Côte d'Opale |
| Christophe RITZENTHALER | IBMP Strasbourg |
| Pascal SIMONET | Ecole Centrale Lyon |

# Programme du colloque de la SFP, Colmar 2-5 juin 2015

## Mardi 02 juin 2015

**13h00-14h30** Accueil des congressistes, café de bienvenue, bagagerie

**14h30-15h00** Allocution d'ouverture par les organisateurs

**15h00-15h40** Conférence invitée introductive : Dr Olivier LE GALL, Directeur général délégué de l'INRA

**Session 1 : Taxinomie, diagnostic et détection des agents phytopathogènes**

**15h40-16h20** Orateur invité : Dr Dominique BLANCARD, INRA Bordeaux, « Le diagnostic de terrain en santé des plantes : n'oubliez pas vos bottes et votre smartphone ! »

**16h20-16h40** D. Barry-Etienne « Innovation pour diagnostiquer les champignons lignivores des arbres sur pied : exemples de trois missions exploratoires pour la ville de Paris ».

**16h45 Vin d'honneur**

**17h30-19h30** : **Table ronde sur les métiers de la phytopathologie**
Ouverte aux étudiants et au grand public, cette table ronde présentera le parcours et les activités d'un panel de professionnels illustrant divers métiers de la phytopathologie : enseignement (Pr. Ivan Sache, AgroParisTech), recherche privée (Dr Mamadou Mboup, DuPont), épidémio-surveillance (Régis Quaren, Fredon), phytodiagnostic (Christophe Debonneville, BioReba), réglementation phytosanitaire (Dr Clémence Hipper, Arysta), conseil agricole (Céline Abidon, Chambre d'Agriculture) et journalisme agricole (Marianne Loison, New AG).

---

## Mercredi 03 juin 2015

**Session 1 (suite)**

**8h30-8h50** C. Husson « Evidence for homoploid speciation in *Phytophthora alni* supports taxonomic reclassification in this species complex ».

**8h50-9h10** B. Legendre et F. Poliakoff « Evaluation intra et inter-laboratoires de méthodes d'analyses biomoléculaires pour la détection de *Xylella fastidiosa* ».

**9h10-9h30** L. Ackerer « Nanobody-based products as diagnostic tool for grapevine fanleaf degeneration ».

**9h30-9h50** J. Thuillier « La technique d'analyse par MALDI-TOF pour l'identification et la caractérisation de champignons phytopathogènes ».

**9h50-10h20** Pause café

## Session 2 : Interactions plante-pathogène et plante-symbiote : mécanismes, vection, génomique et réponse de la plante

**10h20-10h40** Oratrice invitée : Prof. Saskia HOGENHOUT, JIC Royaume-Uni, « Multitasking, how single bacterial virulence proteins modulate plant development and attract insect vectors ».

**10h50-11h10** M. Gotté « Methyl jasmonate affects morphology, number and activity of endoplasmic reticulum bodies in *Raphanus sativus* root cells ».

**11h10-11h30** S. German-Retana **«** Key mutations in the cylindrical inclusion involved in *Lettuce mosaic virus* adaptation to eIF4E-mediated resistance in lettuce ».

**11h30-11h50** G. Nguyen « Roles of hydrophilin-like protein in the filamentous fungi *Alternaria brassicicola* ».

**11h50-12h10** D. Tharreau « Interactions spécifiques et adaptation à l'hôte chez *Magnaporthe oryzae* »

**12h10-12h30** J. B. Morel « The blast fungus secretes cytokinins to inhibit plant defenses and drain nutrients from rice tissues ».

**12h30-12h50** S. Farine « Toxicité des composés extracellulaires produits par deux champignons impliqués dans la maladie du bois de la Vigne ».

**13h00-14h15** Déjeuner

**14h15-15h55 Session 2 (suite)**

**14h15-14h35** M. Barret « Dynamique de la structure du microbiote associé aux semences lors de la germination levée ».

**14h35-14h55** V. Brault « Identification of an aphid protein involved in *Turnip yellows virus* transmission by *Myzus persicae* ».

**14h55-15h15** M. Rickauer « Ve1-independent resistance to Verticilium wilt in *M. truncatula* involves regulation by ABA, SA and auxin and a network of co-regulated genes related to PAMP-triggered immunity ».

**15h15-15h35** M. Fagard « Impact of nitrogen limitation on the response of *Arabidopsis* to pathogens ».

**15h35-15h55** D. Halter « Génomique fonctionnelle du métabolisme de défense de la vigne ».

**16h00-16h30** Pause

**16h30-17h30 Session posters 1/2**, numéros pairs

**17h30-18h30 Assemblée générale de la SFP**

---

**Jeudi 04 juin 2015**

**Session 2 (suite)**

**8h30-8h50** P. Ratet « Multiple steps control immunity during the legume rhizobia symbiotic interaction ».

**8h50-9h10** S. Cociancich « Full elucidation of the hitherto unknown structure of albicidin, a potent antibiotic produced by *Xanthomonas albilineans* ».

**9h10-9h30** J. Chong « The SWEET family of sugar transporters in grapevine: VvSWEET4 is involved in the interaction with *Botrytis cinerea* ».

**9h30-9h50** M. Choquer « Transcriptome analysis of the infection cushion of *Botrytis cinerea* »

**9h50-10h10** A. Alliaume « Etude de la transmission de l'ampélovirus *Grapevine leafroll-associated virus* 1 et du vitivirus *Grapevine virus A* par la cochenille *Phenacoccus aceris* ».

**10h10-10h40** Pause café

**10h40-11h00** V. Ziegler-Graff « Découverte d'un nouvel ORF cryptique chez les polerovirus et luteovirus nécessaire au mouvement systémique viral ».

**11h00-11h20** B. Monsion « Biosensing de l'ARN double-brin *in vitro* et *in vivo* ».

**11h20-11h40** D. Fernandez « Mécanismes histologiques et moléculaires de l'interaction entre le riz et les nématodes à galles ».

**Session 3 : Epidémiologie aux différentes échelles, génétique des populations et écologie évolutive du parasitisme et de la symbiose**

**11h40-12h20 :** Orateur invité : Prof. Ivan Sache « "Une Santé" : santé humaine, santé animale et gestion de l'environnement. Et la santé végétale dans tout ça ? »

**12h20-12h40** C. Leyronas « Caractérisation de l'inoculum aérien de *Botrytis cinerea* pour la prévision des épidémies de pourriture grise ».

**12h40-13h00** M. Dron « Dynamique épidémique des pathologies de la vanille Tahiti dans une zone de production polynésienne : une étude de cohorte ».

**13h00-14h15** Déjeuner

**Session 3 (suite)**

**14h15-14h35** S. Khayi « Diversification du phytopathogène émergent *Dickeya solani* via des transferts horizontaux intra et inter-espèces ».

**14h35-14h55** P. Frey « Mapping QTL of aggressiveness traits in the poplar rust fungus ».

**14 h55-15h15** J. M. Hily « The relationship between host lifespan and pathogen reservoir potential: an analysis in the system *Arabidopsis thaliana-Cucumber mosaic virus* ».

**15h15-15h35** F. Fabre « Joint estimation of effective population sizes and selection coefficients from time-sampled data: a case study on virus populations submitted to plant resistance ».

**15h35-15h55** P. Lepoivre « Traité de Phytopathologie ».

**16h00-16h30** Pause

**16h30-18h00 Session posters 2/2**, numéros impairs

**18h00** Départ en car du CREF pour le **dîner de gala**, en un haut-lieu historique d'Alsace.

**Retour à Colmar vers 23h00 - 23h30.**

---

**Vendredi 05 juin 2015**

**Session 4 : Protection des plantes, résistance durable, nouvelles technologies et gestion des risques**

**8h30-9h10** Orateur invité : Dr Pascal Simonet, EC Lyon «Transferts de gènes de plantes transgéniques aux bactéries environnementales et impact sur le microbiote »

**9h10-9h30** M. Comby **«** Criblage des endophytes du blé comme agents de protection biologique contre la fusariose des épis : approches *in vitro* et *in planta* ».

**9h30-9h50** C. Tayeh « De l'analyse de risque phytosanitaire à un outil d'aide à la décision pour la hiérarchisation des organismes nuisibles : BiORRS ».

**9h50-10h10** A.N. Volkoff « EMBA : un réseau pour structurer la recherche sur le biocontrôle ».

**10h10-10h40** Pause café

**10h40-11h00** T. Boureau « www.phenoplant.org **:** un outil web pour l'exploitation de gros jeux d'images de fluorescence de chlorophylle ».

**11h00-11h20** M. E. Ors **«** Influence du cultivar et du stimulateur de défense des plantes dans la résistance induite vis-à-vis de *Mycosphaerella graminicola* ».

**11h20-11h40** D. Merdinoglu « Vers de nouvelles variétés de vigne résistantes aux maladies pour une viticulture durable ».

**11h40-13h00** Clôture du colloque, exposé conclusif (Dr Claude GILBERT, CNRS), remise des prix étudiants.

Panier repas

**Table des matières**


Mardi 2 juin

Taxinomie, diagnostic et détection des agents phytopathogènes

**15h40** Dr Dominique BLANCARD, INRA Bordeaux, **« Le diagnostic de terrain en santé des plantes : n'oubliez pas vos bottes et votre smartphone ! »** 2

**16h20** D. Barry-Etienne **« Innovation pour diagnostiquer les champignons lignivores des arbres sur pied : exemples de trois missions exploratoires pour la ville de Paris ».** 3

Mercredi 3 juin

Taxinomie, diagnostic et détection des agents phytopathogènes (suite)

**8h30** C. Husson **« Evidence for homoploid speciation in *Phytophthora alni* supports taxonomic reclassification in this species complex ».** 4

**8h50** B. Legendre et F. Poliakoff **« Evaluation intra et inter-laboratoires de méthodes d'analyses biomoléculaires pour la détection de *Xylella fastidiosa* ».** 5

**9h10** L. Ackerer **« Nanobody-based products as diagnostic tool for grapevine fanleaf degeneration ».** 6

**9h30** J. Thuillier **« La technique d'analyse par MALDI-TOF pour l'identification et la caractérisation de champignons phytopathogènes ».** 7

Interactions plante-pathogène et plante-symbiote : mécanismes, vection, génomique et réponse de la plante

**10h20** S. Hogenhout **« Multitasking, how single bacterial virulence proteins modulate plant development and attract insect vectors ».** 9

**10h50** M. Gotté **« Methyl jasmonate affects morphology, number and activity of endoplasmic reticulum bodies in *Raphanus sativus* root cells ».** 10

**11h10** S. German-Retana **« Key mutations in the cylindrical inclusion involved in *Lettuce mosaic virus* adaptation to eIF4E-mediated resistance in lettuce ».** 11

**11h30** G. Nguyen **« Roles of hydrophilin-like protein in the filamentous fungi *Alternaria brassicicola* ».** 12

**11h50** D. Tharreau **« Interactions spécifiques et adaptation à l'hôte chez *Magnaporthe oryzae* »** 13

**12h10** J. B. Morel **« The blast fungus secretes cytokinins to inhibit plant defenses and drain nutrients from rice tissues ».** 14

**12h30** S. Farine **« Toxicité des composés extracellulaires produits par deux champignons impliqués dans la maladie du bois de la Vigne ».** 15

**14h15** M. Barret **« Dynamique de la structure du microbiote associé aux semences lors de la germination levée ».** 16

**14h35** V. Brault **« Identification of an aphid protein involved in *Turnip yellows virus* transmission by *Myzus persicae* ».** 17

**14h55** M. Rickauer **« Ve1-independent resistance to Verticilium wilt in *M. truncatula* involves regulation by ABA, SA and auxin and a network of co-regulated genes related to PAMP-triggered immunity ».** 18
**15h15** M. Fagard **« Impact of nitrogen limitation on the response of *Arabidopsis* to pathogens ».** 19
**15h35** D. Halter **« Génomique fonctionnelle du métabolisme de défense de la vigne ».** 20

Jeudi 4 juin

Interactions plante-pathogène et plante-symbiote : mécanismes, vection, génomique et réponse de la plante (suite)

**8h30** P. Ratet **« Multiple steps control immunity during the legume rhizobia symbiotic interaction ».** 21
**8h50** S. Cociancich **« Full elucidation of the hitherto unknown structure of albicidin, a potent antibiotic produced by *Xanthomonas albilineans* ».** 22
**9h10** J. Chong **« The SWEET family of sugar transporters in grapevine: VvSWEET4 is involved in the interaction with *Botrytis cinerea* ».** 23
**9h30** M. Choquer **« Transcriptome analysis of the infection cushion of *Botrytis cinerea* »** 24
**9h50** A. Alliaume **« Etude de la transmission de l'ampélovirus *Grapevine leafroll-associated virus* 1 et du vitivirus *Grapevine virus A* par la cochenille *Phenacoccus aceris* ».** 25
**10h40** V. Ziegler-Graff **« Découverte d'un nouvel ORF cryptique chez les polerovirus et luteovirus nécessaire au mouvement systémique viral ».** 26
**11h00** B. Monsion **« Biosensing de l'ARN double-brin *in vitro* et *in vivo* ».** 27
**11h20** D. Fernandez **« Mécanismes histologiques et moléculaires de l'interaction entre le riz et les nématodes à galles ».** 28

Epidémiologie aux différentes échelles, génétique des populations et écologie évolutive du parasitisme et de la symbiose

**11h40** I. Sache **« "Une Santé" » : santé humaine, santé animale et gestion de l'environnement. Et la santé végétale dans tout ça ?** 30
**12h20** C. Leyronas **« Caractérisation de l'inoculum aérien de *Botrytis cinerea* pour la prévision des épidémies de pourriture grise ».** 31
**12h40** M. Dron **« Dynamique épidémique des pathologies de la vanille Tahiti dans une zone de production polynésienne : une étude de cohorte ».** 32
**14h15** S. Khayi **« Diversification du phytopathogène émergent *Dickeya solani* via des transferts horizontaux intra et inter-espèces ».** 34
**14h35** P. Frey **« Mapping QTL of aggressiveness traits in the poplar rust fungus ».** 35
**14 h55** J. M. Hily **« The relationship between host lifespan and pathogen reservoir potential: an analysis in the system *Arabidopsis thaliana-Cucumber mosaic virus* ».** 36

**15h15** F. Fabre **« Joint estimation of effective population sizes and selection coefficients from time-sampled data: a case study on virus populations submitted to plant resistance ».** 37
**15h35** P. Lepoivre **« Traité de phytopathologie »** 39

Vendredi 5 juin
Protection des plantes, résistance durable, nouvelles technologies et gestion des risques

**8h30** P. Simonet **« Transferts de gènes de plantes transgéniques aux bactéries environnementales et impact sur le microbiote »** 41
**9h10** M. Comby **« Criblage des endophytes du blé comme agents de protection biologique contre la fusariose des épis : approches *in vitro* et *in planta* ».** 42
**9h30** C. Tayeh **« De l'analyse de risque phytosanitaire à un outil d'aide à la décision pour la hiérarchisation des organismes nuisibles : BiORRS ».** 43
**9h50** A.N. Volkoff « **EMBA : un réseau pour structurer la recherche sur le biocontrôle »** 44
**10h40** T. Boureau **« www.phenoplant.org : un outil web pour l'exploitation de gros jeux d'images de fluorescence de chlorophylle ».** 45
**11h00** M. E. Ors **« Influence du cultivar et du stimulateur de défense des plantes dans la résistance induite vis-à-vis de *Mycosphaerella graminicola* ».** 46
**11h20** D. Merdinoglu **« Vers de nouvelles variétés de vigne résistantes aux maladies pour une viticulture durable »**. 47

**Communication posters**

P1-1 **Assessment of a generic RT-PCR methods for the detection of *Tospovirus*** 50
A. Leguay et P. Gentit
P1-2 **Assessment of a generic RT-PCR methods for the detection of *Potyvirus*** 51
A. Leguay et P. Gentit
P1-3 **Evaluation of a method detecting yellows diseases of *Cucurbitaceae*: *Cucumber vein yellowing virus* (CVYV), *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (CYSDV)** 52
P. Cousseau et P. Gentit
P1-4 **Simplified MLSA schemes for species identification of plant-pathogenic bacteria** 53
P. Portier, G. Taghouti, M. Briand, M. Lecerf, M. Jacquel, A. Lathus, C. Dutrieux et M. Fischer-Le Saux
P1-5 **Caractérisation de souches responsables de bactérioses sur Kiwi et évaluations intra et inter-laboratoires de méthodes d'analyses moléculaires pour leur détection.** 54
B. Legendre, V. Olivier, D. Molusson, S. Mississipi, A. Couton, M. Hervouet, M. Moisson et F. Poliakoff

P1-6 **Développement et validation d'une méthode de surveillance des communautés fongiques à dissémination aérienne dans le cadre de des maladies forestières invasives.** 55
C. L'Huillier, C. Fourrier, C. Husson, I. Cerf-Wendling, R. Ioos et J. Aguayo

P2-1 **Evaluation de la résistance de la famille des *Vitaceae* à des champignons impliqués dans la maladie du bois.** 57
X. Guan, S. Essakhi, H. Laloue, P. Nick, J. Chong et C. Bertsch

P2-2 **Effets des composés extracellulaires des *Botrysphaeriaceae* sur les événements de signalisation précoces** 58
E. Stempien, M. Bénard-Gellon, H. Laloue, S. Farine, F. Mazet-Kieffer, C. Bertsch et J. Chong

P2-3 **Root colonization petterns of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-vanillae* in susceptible and resistant genotypes of vanilla.** 59
S. Koyyappurath, G. Conéjéro, F. Gatineau, F. Montes-Lapeyre, K. Jade, P. Besse et M. Grisoni

P2-4 **The genes involving polyketide synthesis of *Straptomyces rubrolavandulae* strain MJM4426, the stauroporine producer** 60
J.-G. Kim, S. H. Kim, H. Cho, E. S. Song, Jinho Jeong, B. M. Lee

P2-5 **The complete genome sequence of the potato bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* SL2029, one of Korean isolates** 61
E. S. Song, J. G. Kim, H. Cho, Y.J Cho, B. Y. Kim, S. Y. Park, S. Kim et B.M. Lee

P2-6 **L'azote et la résistance à *Botrytis cinerea* chez *Arabodopsis thaliana*** 62
M. C. Soulié, J. Courtial, D. Barbe, T. Charles, M. Fagard,

P2-7 **Effet du changement climatique sur la plasticité phénotypique de la réponse de *Medicago truncatula* au pathogène racinaire *Verticillium alfalfae* : approches pathologiques et moléculaires** 63
A.A.L. Sbeiti, M. Mazurier, C. Ben, M. Rickauer et L. Genztbittel

P2-8 **Effects of phytopathogenic micro-organisms on the composition of seed microbiota** 64
S. Rezki, M.A. Jacques, P. Simoneau, S. Bonneau, M. Briand, C. Campion, B. Iacomi-Vasilescu, Y. Toualbia, E. Laurent et M. Barret

P2-9 **Vigne et *Pantoea agglomerans*** 65
F. Mazet, S. Farine et C. Bertsch

P2-10 **Virus sequestration by a plant defense mechanism targeting a viral protein essential for polerovirus movement** 66
C. Rodriguez-Medina, S. Boissinot, S. Chapuis, D. Gereige, M. Rastegar, M. Erdinger, F. Revers, V. Ziegler-Graff et V. Brault

P2-11 **Etude structurale de l'appareil alimentaire des cochenilles *Phenacoccus aceris*, *Pulvinaria vitis* et *Parthenolecanium corni*, vectrices de virus de la vigne** 67
C. Reinbold, A. Alliaume, G. Hommay et E. Herrbach

P2-12 **Functional analysis of root-knot nematode virulence genes in rice** 68
M. Grossi-de-Sá, I. Mezzalira, M. Beneventi, M.E. Lisei de Sá, D. Amora, H. Baimey, A.S. Petitot, J. De Almeida-Engler, D. Mieulet, E.A. Freire, F.Grossi-de-Sá et D. Fernandez

P2-13 **Molecular and histological analysis of rice (*Oryza glaberrima*) resistance to *Meloidogyne graminicola*** 69
A.S. Petitot, R. Haidar, J. De Almeida-Engler et D. Fernandez

P2-14 **Phenotypic variability between some isolates of *Botrytis cinerea* and *Botrytis pseudocinerea* collected in the region of Bejaia (Northern Algeria)** 70
A. Adjebli, H. Houa, I. Narimene et K. Aissat

P2-15 **Rétention hivernale des virus de l'enroulement et du bois strié de la vigne par les cochenilles *Heliococcus bohemicus* et *Parthenolecanium corni*** 71
G. Hommay, M. Beuve, C. Reinbold, A. Alliaume et E. Herrbach

P2-16 **Interactions compatibles entre *Zymoseptoria tritici* et les espèces de blé tendre et de blé dur : étude comparative** 72
L. Somai-Jemmali, B. Randoux, A. Siah, M. Magnin-Robert, P. Halama, P. Reignault et W. Hamada

P2-17 **Dynamics of the bacterial and fungal rhizosphere communities during the infection of *Brassica rapa* roots by the obligate protist *Plasmodiophora brassicae*** 73
L. Lebreton, A.-Y. Guillerm-Erckelboudt, K. Gazengel, S. Daval, A. Sarniguet, J. Denonfoux, S. Ferreira et C. Mougel

P2-18 **Detoxification of mycotoxins and resistance to fusarium head blight in cereals, from *Brachypodium distachyon* to bread wheat** 74
M. Gatti, Ph. Leroy, F. Cambon, C. Tassy, T. Langin et M. Dufresne

P2-19 **FLP1 and FLP2 genes encode fasciclin I-like proteins that contribute respectively to early or late infection of plant by *Botrytis cinerea*** 75
J. Ferria, C. Rascle, P. Smilevski, G. Fleury, C. Bruel, N. Poussereau et M. Choquer

P2-20 **Fluorescent labeling of the *Grapevine fanleaf virus* using cameloid nanobodies in the nematode vector *Xiphinema index*** 76
A. Marmonier, C. Hemmer, L. Ackerer, S. Gersch, C. Gertz, K. Hliebieh, O. Lemaire, C. Ritzenthaler et G. Demangeat

P2-21 **Nanobodies as Grapevine fanleaf virus biosensors *in vivo*** 77
K. Hleibieh, P. Link, C. Hemmer, B. Monsion, L. Ackerer, A. Marmonier, O. Lemaire, S. Muyldermans, G. Demangeat et C. Ritzenthaler

P2-22 ***Rhizophagus irregularis* decreases the disease severity of *Mycosphaerella fijiensis*, the causal agent of Black Sigatoka, on banana plantlets grown under *in vitro* culture conditions.** 78
Corinne Coretta Oye Anda, H. Dupré de Boulois et S. Declerck

P2-23 **Etude du comportement du puceron face à une plante infectée par un phytovirus (pathosystème Arabidopsis / virus TuYV / Myzus persicae et Brevicoryne brassicae)** 79
Q. Fouché, A. Cherqui, Q. Chesnais, A. Ameline

P3-1 **Caractérisation des populations de *Sclerotinia sclerotiorum* en France** 81
C. Leyronas, M. Bardin, M. Duffaud, C. Troulet et P.C. Nicot

P3-2 **De la lésion au territoire : diversité et structure génétiques de *Zymoseptoria tritici* en France à différentes échelles.** 82
A. Siah, L. El-Chartouni, B. Tisserant, P. Halama et P. Reignault

P3-3 **Adaptation of poplar rust to the poplar varietal landscape** 83
K. J. Hayden, B. Fabre, F. Halkett et P. Frey

P3-4 **Epidémio-surveillance du mildiou de la pomme de terre en France : enjeux actuels et acquis récents** 84
C. Chatot, D. Andrivon, D. Gaucher et R. Corbière

P3-5 **Importance of barley yellow dwarf diseases infecting cereals in Morocco** 85
I. Taoussi, L. Hilali et B. Bencharki

P4-1 **Fusariose du cyclamen : vers une gestion intégrée de la maladie** 87
C. Lecomte, V. Edel-Hermann, A. Langlois, F. Robert, C. Alabouvette et C. Steinberg

P4-2 **Action des extraits aqueux de *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae) et de *Cleome arabica* (Capparidaceae) sur quelques paramètres biologiques de criquets pèlerin.** 88
A. Kemassi, N. Bouziane, Z. Boual, Z. Mesbahi, F. Benbrahim, T. Gharib, A. Hadj Seyd, A. Ould El HAdj-Khelile et M.D. Ould El Hadj

P4-3 **Monitoring and field assay of *Rhodococcus erythropolis* R138, a biocontrol agent directed at blackleg and soft-rot bacteria** 89
J. Cigna, P. Dewaegeneire, E. Munier, Y. Raoul des Essarts, S. Vast, D. Dupre, A. Beury-Cirou, V. Gobert-Deveaux et D. Faure.

P4-4 **Nitrogen fertilization and drought affect *Magnaporthe oryzae* infection and rice resistance.** 90
E. Ballini, P. Bidzinski, T. N'guyen, H. Huang, C. Michel, T. Kroj et J.B. Morel

P4-5 **Screening for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae*** 91
S. Koyyappurath, T. Atuahiva, J. B. Dijoux, K. Jade, M. Dron, P. Besse et M. Grisoni

P4-6 **Plateforme de phénotypage pour l'étude de la résistance de la vigne au mildiou et à l'oïdium** 92
S. Wiedemann-Merdinoglu, V. Dumas, M.A. Dorne, M.C. Lacombe, G. Denis-Semblat, J. Misbach, E. Duchène, P. Mestre et D. Merdinoglu

P4-7 **Apports de la sélection assistée par marqueurs dans la création de variétés de vigne à résistance plurigénique au mildiou et à l'oïdium** 93
E. Prado, C. Schneider, P. Blasi, S. Wiedemann-Merdinoglu, C. Onimus et D. Merdinoglu

**Exposé d'introduction**

Olivier Le Gall

Directeur général délegué de l'INRA, chargé des affaires scientifiques

## Session 1 : Taxinomie, diagnostic et détection des agents phytopathogènes

**Le diagnostic de terrain en santé des plantes : n'oubliez pas vos bottes et votre smartphone !**

Dominique Blancard

*INRA, UMR Santé & Agroécologie de la Vigne, CS20032, Zone D- Bat 2 71, avenue E. Bourlaux, 33883 VILLENAVE D'ORNON*

L'identification d'une maladie dans une culture donnée, qu'elle soit biotique ou abiotique, autochtone ou invasive, constitue toujours un acte prépondérant en protection des plantes. Poser un diagnostic sur le terrain nécessite de nombreuses connaissances et un savoir faire indéniable, fruit d'une longue expérience que possèdent de rares phytiâtres. Considéré par certains comme un art et des méthodes, le diagnostic des maladies des plantes est une science quelque peu oubliée que nous vous proposons de découvrir ou de mieux connaître.

Nous vous suggérons donc de chausser une paire de bottes et rendons-nous ensemble dans une parcelle de melon où une problématique phytosanitaire provoque des dégâts considérables. Dans ce contexte particulier, caractérisé par les nombreuses interactions plantes-pathogènes-producteur-environnement, nous allons rechercher et apprécier les symptômes présents sur les plantes malades (nature et localisation), les interpréter et évaluer leur incidence sur les principales fonctions végétales. En prenant un peu de recul, l'homogénéité de la végétation et les distributions spatiotemporelles des plantes malades seront évaluées. Cela nous permettra normalement de pouvoir répondre à la principale question à se poser à ce stade du diagnostic : avons-nous affaire à une maladie biotique ou abiotique ? En fonction de l'hypothèse à valider, nous passerons en revue les connaissances et les observations complémentaires à mobiliser. Acteur principal de la production et de la protection des plantes, le producteur sera questionné afin de lui faire dire ce qu'il connaît de la culture et de son environnement, et préciser ses diverses interventions. A la suite de cette véritable enquête phytopathologique, nous consulterons ensemble les différents outils à notre disposition sur le terrain ou sur le web (ouvrages, trop rares kits de détection, réseaux d'experts, applications web et nomades), afin de valider définitivement une dernière hypothèse. Quelques outils nomades INRA de diagnostic-conseil, d'épidémio-surveillance, et de biovigilance seront rapidement présentés, en montrant par exemple leur intérêt dans le cas de l'émergence potentielle en France d'une bactérie comme X*ylella fastidiosa*.

Une fois le diagnostic définitif posé, il sera alors possible d'élaborer et de proposer au producteur une stratégie de protection parfaitement adaptée et durable. Dans le cas contraire, des échantillons seront prélevés, conditionnés et expédiés (accompagnés d'une fiche de renseignements) à un laboratoire de diagnostic générique ou expert. Au final, de nombreuses connaissances et expertises auront été mobilisées pour identifier un agent pathogène ou une maladie abiotique, ceci grâce à un continuum assuré du terrain au laboratoire.

**Références bibliographiques**

- Biggs et al. 1998. Plant Disease, 82 : 452-464. - Hansen et al. 1993. Advances in Plant Pathology, 10 : 65-126. – Holmes et al., 2000. Plant Disease, 84 : 1256-1265. - Jacobsen et al., 1990. Annual Review of Phytopathology, 28 : 271-294. - Putnam, M. L., 1995, 14 : 517-525. - Shutleff M. C., Averre C. W., 1997. American Phytopathological Society.

**Innovation pour diagnostiquer les champignons lignivores des arbres sur pied : exemples de trois missions exploratoires pour la ville de Paris.**

D. Barry-Etienne (responsable laboratoire et R&D Alcina), L. Piouceau (chargée de recherches Alcina), E. Herbain (chargé d'études et de diagnostics, Direction des Espaces Verts et de l'Environnement, Mairie de Paris).

Les arbres situés dans un contexte urbain ou en bord de route subissent des contrôlés phytosanitaires réguliers durant lesquels leurs tenue mécanique est évaluée. Or le développement de champignons lignivores dans leur bois les fragilise et les rend dangereux. Généralement, lorsqu'une pourriture interne est dia-gnostiquée, le champignon est identifié uniquement si la fructification est présente.
Récemment, Alcina a développé des outils biomoléculaires pour identifier ces champignons directement dans le bois. Une méthode et un plan d'échantillonnage de bois pourri ont été mis au point, et des PCR multiplex avec amorces spécifiques aux champignons les plus problématiques ont été développées.
Dans le contexte de validation et développement de ces méthodes, Alcina en collaboration avec la Ville de Paris a mené 3 études exploratoires visant à répondre aux problématiques de la Ville et à valider nos outils.
Étude 1 : Identification des champignons responsables des chutes d'arbres sur deux sites dans Paris (un alignement et un parc). Les analyses ont permis d'écarter l'hypothèse de l'activité pathogène de l'armillaire sur ces arbres. Pour l'alignement, plusieurs espèces de champignons lignivores ont été identifiées alors que dans le parc une espèce, *Perenniporia fraxinea*, a été identifiée sur plusieurs arbres.Étude 2 : Visualisation de la répartition du champignon *Armillaria mellea* sur le système racinaire d'un pin atteint. Trois profils de sol situés à 2 m, 1 m et 30 cm du collet et de 1 à 2 m de large sur 1 m de profondeur ont été étudiés. Pour chaque profil, le nombre de racines, leur diamètre et leur état sanitaire (pourri, sain, présence d'armillaire) ont été référencés. La présence de l'armillaire sur les racines a été recherchée par des analyses moléculaires.
Étude 3 : Localisation de *Phaeolus schweinitzii* dans un groupe de cèdres autour d'un arbre atteint par ce champignon. Après la chute de ce cèdre, le gestionnaire souhaitait savoir si les arbres autour étaient contaminés. Les amorces spécifiques et la PCR ont été mises au point avant de faire le diagnostic de présence sur les cèdres alentours. Les analyses montrent que le *P. schweinitzii* n'est pas présent sur ces arbres.Ces études montrent clairement l'intérêt pour un gestionnaire d'utiliser en routine les analyses moléculaires pour identifier les champignons, mais aussi d'une façon plus générale pour mieux connaître leur répartition ou leur dynamique dans un site.

**Evidence for homoploid speciation in *Phytophthora alni* supports taxonomic reclassification in this species complex.**

C. Husson[1,2], J. Aguayo[4], C. Revellin[3], P. Frey[1,2], R. Ioos[4] B. Marçais[1,2]

*[1]INRA, UMR 1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54280 Champenoux, France ; [2]Université de Lorraine, UMR1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54500 Vandoeuvre-les-Nancy, France ; [3]INRA, UMR1347 Agroécologie, F-21000 Dijon, France ; ANSES Laboratoire de la Santé des Végétaux, Unité de Mycologie, Domaine de Pixérécourt, F-54220 Malzéville, France*

Alder decline has been a problem along European watercourses since the early 1990s. Hybridization was identified as the main cause of this emerging disease. Indeed, the causal agent, a soil-borne pathogen named *Phytophthora alni* subsp. *alni* (*Paa*) is the result of interspecific hybridization between two taxa, *Phytophthora alni* subsp. *multiformis* (*Pam*) and *Phytophthora alni* subsp. *uniformis* (*Pau*), initially identified as subspecies of Paa. Our aim was to characterize the ploidy level within the *P. alni* complex that is presently poorly understood. For that, we used two complementary approaches for a set of 31 isolates of *Paa*, *Pam* and *Pau* : (i) quantification of allele copy number of three single-copy nuclear genes using allele-specific real-time PCR and (ii) comparison of the genome size estimated by flow cytometry. Relative quantification of alleles of the three single-copy genes showed that the copy number of a given allele in *Paa* was systematically half that of its parents *Pau* or *Pam*. Moreover, DNA content estimated by flow cytometry in *Paa* was equal to half the sum of those in *Pam* and *Pau*. Our results therefore suggest that the hybrid *Paa* is an allotriploid species, containing half of the genome of each of its parents *Pam* and *Pau*, which in turn are considered to be allotetraploid and diploid, respectively. *Paa* thus results from a homoploid speciation process. Based on published data and on results from this study, a new formal taxonomic name is proposed for the three taxa *Paa*, *Pam* and *Pau* which are raised to species status and renamed *P. x alni*, *P. x multiformis* and *P. uniformis*, respectively.

**Références bibliographiques :**

Husson et al. 2015. Fungal Genetics and Biology 77, 12-21.

**Evaluation intra et inter-laboratoires de méthodes d'analyses biomoléculaires pour la détection de *Xylella fastidiosa*.**

B. Legendre[1], V. Olivier[1], D. Molusson[1], S. Mississipi[2], A. Couton[3], M. Hervouet[1], M. Moisson[1] et F. Poliakoff[1]

*[1]Laboratoire de la santé des végétaux, Anses, 7 rue Jean Dixméras, 49044 Angers, France ; [2]Nestlé, Centre de recherche et de développement, 101 av. Gustave Eiffel, Notre Dame d'Oé, B.P. 49716, 37097 Tours, France ; [3]FREDON des Pays-de-la-Loire, 9, avenue du Bois L'Abbé - CS 30045 - 49071 Beaucouzé, France*

*Xylella fastidiosa* est une bactérie du xylème originaire du continent américain qui présente sur une large gamme d'hôtes. Malgré un statut d'organisme réglementé de quarantaine pour l'Union européenne et l'existence d'une réglementation à l'importation, *X. fastidiosa* est maintenant un organisme émergent en Europe avec la découverte fin 2013 d'un foyer sur olivier en Italie (Saponari *et al.*, 2013). En 2014, la bactérie a également été décrite en Iran sur vigne et amandier (Amanifar *et al*., 2014). En France, la bactérie a été isolée en 2012, 2014 et 2015 de plants de caféiers (*Coffea arabica, C. canephora* et *C. liberica*) originaires d'Amérique latine.
De nombreuses espèces végétales contaminées par la bactérie peuvent rester asymptomatiques et présenter de faibles taux de contamination. Ainsi, l'importation de matériel végétal en provenance de zones contaminées par *X. fastidiosa* constitue une voie d'introduction pour les zones indemnes.
L'objectif de la présente étude a été d'évaluer différentes méthodes de détection dans le but de sélectionner des outils performants en vue de réaliser des tests de détection sur du matériel importé et dans le cadre de la surveillance du territoire.
Suite à une pré-étude bibliographique, plusieurs PCR et une PCR en temps réel ont fait l'objet d'une évaluation intra-laboratoire. Ensuite les méthodes présentant les meilleurs critères de performance ont fait l'objet d'une évaluation inter-laboratoires incluant 7 laboratoires de cinq pays (France, Pays-Bas, Italie, Nouvelle-Zélande et Royaume-Uni).
Les critères suivants ont été évalués : inclusivité, exclusivité, sensibilité, répétabilité, reproductibilité et limite de détection.
Les tests ont été conduits sur différentes matrices végétales artificiellement contaminées incluant le pêcher (*Prunus persica*), des caféiers (*Coffea arabica* et *C. canephora*), la vigne (*Vitis vinifera*), l'oranger (*Citrus sinensis*) et l'olivier (*Olea europaea*).
Le DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen) a été utilisé pour l'extraction d'ADN. Parmi les méthodes évaluées, les meilleures performances ont été obtenues par la PCR en temps réel développée par Harper *et al* (2010, erratum 2013) suivi de la PCR en point final développée par Minsavage *et al*. (1994).
Le seuil de détection sur échantillons artificiellement contaminés atteint $3.10^2$ bactéries/mL ($1,5.10^2$ bactéries/g de tissu végétal) avec la PCR en temps réel (Harper *et al.*, 2010). Cependant, pour ce critère, de fortes variations ont été observées selon les matrices testées. De nouveaux travaux sont en cours concernant l'évaluation de procédés alternatifs d'extraction de l'ADN. Des résultats encourageants ont été obtenus pour la détection de *X. fastidiosa* sur matrices complexes telle que l'olivier.

**Nanobody-based products as diagnostic tool for grapevine fanleaf degeneration**

L. Ackerer[1,2,3], B. Monsion[1], C. Hemmer[1], V. Komar[2], E. Vigne[2], C. Gertz[2], K. Hleibieh[1], I. Beccavin[3], L. Audeguin[3], A.S. Spilmont[3], S. Muyldermans[4], C. Ritzenthaler[1] et G. Demangeat[2].

*[1]Institut de biologie moléculaire des plantes, Université de Strasbourg, 12 rue du général Zimmer 67084 Strasbourg cedex, France ; [2]Institut national de la recherche agronomique, 28 rue de Herrlisheim 68000 Colmar, France ; [3]Institut Français de la Vigne et du Vin, Domaine de l'Espiguette 30240 Le Grau du Roi, France ; [4]Laboratorium voor Cellulaire en Moleculaire Immunologie, Vrije Universiteit Brussels, Pleinlaan 2, 1050 Brussels, Belgium.*

*Grapevine fanleaf virus* (GFLV) and *Arabis mosaic virus* (ArMV) are the major pathogens responsible for grapevine fanleaf degeneration, one of the most severe viral diseases of grapevine worldwide. These viruses cause substantial crop losses, reduce fruit quality and shorten the longevity of grapevine. They are specifically acquired from and transmitted to grapevine by soil-borne nematodes during their feeding process on the growing roots.
No natural resistance to these viruses has been reported so far in *Vitis* species. Since the ban on nematicides used to control nematode populations, the spread of the disease is limited by uprooting grapevine in infected plots and by replanting certified healthy propagative material after at least five fallow years. Rigorous certification schemes have resulted in significant progress in controlling the spread of GFLV and ArMV through systematic and reliable diagnosis of grapevine propagation material.
The certification of propagative material is mainly based on enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), using immunochemical reagents derived from polyclonal or monoclonal antibodies originally obtained from mammals after immunization. Their production is expensive and requires very specific structures and skills. Furthermore, the amount and the quality of antibodies produced can be prone to variations in performance. These classical ELISA reagents could favorably be replaced by Nanobodies. Nanobodies are small peptides derived from heavy chain only antibodies found in camelids. They are the smallest naturally occurring intact antigen-binding domains known to date. They are monovalent, stable, soluble, and can be easily produced in unlimited amounts in bacteria such as *E. coli*.
In collaboration with Serge Muyldermans, we have recently produced Nanobodies against GFLV and ArMV, and we investigated the potential of these Nanobodies as diagnostic tools in ELISA. Results concerning their performance for the detection of a wide range of nepovirus isolates from the grapevine collections of the Institut Français de la Vigne et du Vin and the Institut National de la Recherche Agronomique of Colmar suggest that they outcompete current commercial tests and could therefore replace the latter in the future.

**La technique d'analyse par MALDI-TOF pour l'identification et la caractérisation de champignons phytopathogènes.**

J. Thuillier[1], J.S. Py[2], B. Gassilloud[2], I. Cerf-Wendling[1] et R. Ioos[1]

*[1]ANSES-LSV Domaine de Pixérécourt. Bâtiment E, 54220 Maxéville; [2]ANSES-LHN rue Lionnois 54000 Nancy*

A l'heure actuelle, les principales méthodes pour identifier un champignon combinent une approche morphologique et moléculaire (barcoding). Ces techniques présentent de nombreux inconvénients dont le temps d'analyse, la formation de personnels très qualifiés et l'incapacité à identifier les formes spécialisées du champignon. Le MALDI-TOF est un spectromètre de masse qui allie un laser assisté d'une matrice comme source d'ionisation (MALDI : Matrix-*Assisted Laser Desorption/Ionisation*) et un analyseur de type TOF (*time-of-flight*). Cet appareil permet d'identifier des molécules/organismes d'intérêt par analyse de leur spectre de masses et il est utilisé pour l'identification de bactéries ou de levures, à partir de simples cultures pures.
L'objectif de l'étude consiste à évaluer la technologie MALDI-TOF pour l'identification et la caractérisation des champignons phytopathogènes à différents rangs taxonomiques : genre, espèce, espèce cryptique, forme spéciale, voire VCG.
Pour ce faire, les conditions analytiques nécessitent une optimisation préalable. En effet, Il est essentiel de pouvoir collecter le plus de protéines possible pour espérer générer un spectre riche en pics de masse et donc discriminer efficacement des champignons morphologiquement et génétiquement très proches. De nombreux protocoles d'extraction de protéines ont été étudiés afin d'optimiser cette étape.
Les premiers résultats montrent qu'il n'existe pas de protocole universel, utilisable indépendamment du genre de champignons phytopathogènes. En revanche, un protocole s'est avéré très prometteur pour l'identification des taxa au sein de *Fusarium*, genre très complexe et qui comporte de très nombreux agents phytopathogènes.
Toute la suite du projet va donc concentrer les investigations au sein du genre *Fusarium* afin d'estimer jusqu'à quel rang taxonomique l'identification est possible. L'alternative du MALDI-TOF aux stratégies d'identification utilisées aujourd'hui, permettrait de disposer d'une technique très rapide et économe, ne nécessitant pas de main d'œuvre qualifiée et limitant l'erreur humaine pour l'identification des champignons phytopathogènes.

**Session 2 : Interactions plante-pathogène et plante-symbiote : mécanismes, vection, génomique et réponse de la plante**

**Multitasking, how single bacterial virulence proteins modulate plant development and attract insect vectors**

Saskia A. Hogenhout

*Department of Cell and Developmental Biology, John Innes Centre, Norwich Research Park, Norwich, NR4 7UH, United Kingdom*

One of the most spectacular phenomena in biology is the complete hijacking of hosts by parasites such that these hosts become 'zombies' destined to advance survival of the parasites often to the detriment of the hosts. Phytoplasmas are obligate intracellular bacterial parasites of plants that induce dramatic changes in plant development, including proliferation of stems (witch's brooms) and the reversion of flowers into leaf-like structures (phyllody). These bacterial parasites produce two virulence proteins (effectors), named SAP11 and SAP54, that promote the degradation of plant TCP and MADS-box transcription factors, respectively, thus altering leaf and flower development. Phytoplasmas are dependent on sap-feeding insects for transmission to plants. Interestingly, SAP11 and SAP54 also convert plants into more attractive hosts for egg laying and reproduction of the insect vectors. Thus, phytoplasma effectors interfere with key plant developmental processes. Moreover, these effectors increase the colonization of plants by insect vectors thereby promoting transmission of the obligate phytoplasmas to new plant hosts.

**Methyl jasmonate affects morphology, number and activity of endoplasmic reticulum bodies in *Raphanus sativus* root cells**

M. Gotté[1,2], R. Ghosh[1,2], S. Bernard[1], E. Nguema-Ona[1], M. Vicré-Gibouin[1] et A. Driouich[1]

*[1]Laboratoire de Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, GRR-VASI-PRIMACEN (IRIB), Normandie Université; Université de Rouen, 76821 Mont Saint-Aignan, France; [2] The authors contributed equally to this work.*

Les corps du réticulum endoplasmique (RE) appelés ER bodies dans la littérature, sont des structures dérivées du RE retrouvés chez les Brassicacées et jouant un rôle présumé dans la défense de la plante (Nakano et al., 2014). Ces structures ont été retrouvées chez le radis, le cresson, le chou, etc... mais aucune étude fonctionnelle de ces organites n'a été menée sur des plantes d'intérêts agronomiques, ces études ayant été conduites uniquement chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*. Par ailleurs, la localisation spécifique dans les ER bodies d'une des protéines les plus abondantes des racines d'Arabidopsis : la ß-glucosidase (BGLU) PYK10/BGLU23 (Matsushima et al., 2003) ainsi que l'abondance de ces organites dans les racines (Bonnet & Newbcomb, 1965 ; Iversen & Flood, 1969 ; Matsushima et al., 2002) suggèrent fortement que les ER bodies jouent un rôle majeur dans les racines des Brassicacées.
Dans cette étude nous avons analysé la présence, la distribution et la fonction des ER bodies dans les cellules racinaires du radis *Raphanus sativus*, une plante consommée de par le monde, en utilisant la combinaison des approches microscopique et biochimique.
Nous avons également analysé la réponse des ER bodies au méthyl jasmonate (MeJa), une phytohormone qui est impliquée dans la mise en place des défenses de la plante lors de blessures et d'agressions par des pathogènes nécrotrophes.
Nos résultats montrent que 1) Les ER bodies sont présents dans différents types cellulaires depuis la coiffe jusqu'à la zone de différentiation. 2) Ils stockent une protéine reconnue par l'anticorps qui reconnait spécifiquement la ß-glucosidase PYK10 chez Arabidopsis et qui peut être considérée comme le marqueur des ER bodies. 3) Le traitement des racines par le MeJa entraine une augmentation significative du nombre de ER bodies et de l'activité ß-glucosidique et ß-fucosidique d'une fraction enrichie en ER bodies. Plus important encore, nous avons révélé que le MeJa induit la formation de très longs ER bodies après fusion de petits ER bodies. Un phénomène qui n'avait jamais été reporté dans d'autres études.
Ces résultats démontrent que le MeJa impacte le nombre et la morphologie des ER bodies et stimule leur activité enzymatique qui est présumée jouer un rôle dans la défense de la racine du radis, suggérant également que ces structures dérivées du RE pourraient fournir un système de défense spécifique aux cellules racinaires.

**Key mutations in the cylindrical inclusion involved in *Lettuce mosaic virus* adaptation to eIF4E-mediatedresistance in lettuce.**

M. Sorel, L. Svanella-Dumas, T. Candresse, M.C. Houvenaghel, A. Bordat et S. German-Retana

*INRA, UMR BFP 1332, Equipe de Virologie, CS 20032, 33882 Villenave d'Ornon Cedex, France*

A major breakthrough in our understanding of plant resistance to viruses was the identification of the eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E) as a major component of plant resistance to potyviruses, and of the VPg (Viral genome linked protein) as the main viral resistance-breaking determinant. Exploring the complexity of the lettuce-*Lettuce mosaic virus* (LMV) pathosystem, we have identified two viral eIF4E resistance-breaking determinants, the VPg and the Cylindrical Inclusion helicase (CI), providing the first example of a potyvirus CI acting as a determinant for eIF4E-mediated resistance-breaking. We have shown that non-lettuce isolates (from weeds and ornamental plants) can adapt to eIF4E-mediated resistance in lettuce, by acquiring mutations in the CI C-terminal region. The role of these mutations in eIF4E resistance-breaking has been validated by reverse genetics. Through the analysis of the fitness cost associated to these mutations, the nature of the mutations, and the molecular diversity of natural LMV isolates, we proposed a hypothesis to explain why an eIF4E-resistance that can be overcome by mutations in either the VPg or the CI is nevertheless durable in the field (Sorel, Svanella-Dumas et al., 2014).
We also showed that the resistant allele at the eIF4E locus restricts the intercellular movement of LMV in lettuce, and affects viral loading and unloading from the phloem. To determine which step of LMV infection is restored by the resistance-breaking mutations in the CI, the movement of an avirulent LMV isolate and of its GFP tagged-mutants derivatives was monitored in susceptible and resistant plants. We showed that resistant-breaking mutants' cell-to-cell movement was still hindered in resistant plants, but that their systemic movement was partially restored. Therefore, the eIF4E–CI interaction could contribute somehow to the long-distance movement process of LMV in lettuce.

**Rôles of hydrophilin-like protein in the filamentous fungi *Alternaria brassicicola***

G. Nguyen, M. Marchi, E. Dias, B. Calmes, S. Pochon, N. Bataillé-Simoneau, C. Campion, P. Simoneau et T. Guillemette

*SFR Quasav 4207, UMR 1345-IRHS, FungiSem, Faculté des Sciences, 2 bd Lavoisier, 49045 Angers cedex 01, France*

During their life cycle, fungi face adverse environmental conditions associated with alterations in water status. Phytopathogenic fungi are faced with this type of stress during the infection process, especially when they colonize seeds. Although these organisms are particularly effective to adapt to these water potential decreases, these coping mechanisms are so far very poorly described, particularly in filamentous fungi. *Alternaria brassicicola* is a seed-borne fungal pathogen responsible for the black spot disease on *Brassicaceae* plants. Alteration of *Brassicaceae* seed quality is one of the most damaging effects of the black spot. Beyond contribution to pathogen dissemination, the presence of the fungus on the seeds compromises seedling germination and survival. To better understand the determinism of fungus transmission to seeds, we previously established a reliable Arabidopsis-based pathosystem allowing investigations of *A. brassicicola* transmission to seeds. In particular, we showed that two mutants strain ∆abhog and ∆abnik exhibiting higher susceptibility to osmotic and water stress were highly impaired in seed transmission ability.
Transcriptomic analyzes, carried out under different experimental in vitro conditions inducing these types of stress (addition of sorbitol or Poly Ethylene Glycol (PEG) or by incubation under low relative humidity (1% RH), allowed us to identify additional mechanisms potentially involved in the fungal adaptive responses. In particular, these analyzes revealed a pool of over-expressed genes encoding putative proteins which share physiochemical features typical of hydrophilin-like proteins. We initiated studies of some of these hydrophilins by generating respective Knock-Out mutants. Functional studies has been carried out to determine whether these mutants were impaired in their adaptive response to water stress and other types of stress (such as oxidative stress) and whether hydrophilins are involved in pathogenicity. Additional transcriptomic assays conducted on ∆abhog and ∆abnik strain growth under sorbitol exposure revealed that numerous hydrophilins are regulated by these two genes.

**Interactions spécifiques et adaptation à l'hôte chez *Magnaporthe oryzae***

R. Gallet[1], I. Meusnier[1], J. Milazzo[2], H. Adreit[2], C. Tertois[2], P. Gladieux[1], T. Kroj[1], E. Fournier[1], J. B. Morel[1] et D. Tharreau[2].

*[1]INRA, UMR BGPI, Montpellier, France; [2] CIRAD, UMR BGPI, Montpellier, France; [3]CNRS, UMR Bioger, Grignon, France*

*Magnaporthe oryzae* (syn. *Pyricularia oryzae*) est le champignon responsable de la pyriculariose du riz. La résistance variétale est une composante essentielle des stratégies de lutte contre cette maladie à distribution mondiale et très dommageable pour une des principales cultures alimentaires. Pourtant, l'agent pathogène présente une remarquable capacité d'adaptation à de nouveaux hôtes, illustrée par des événements fréquents et précoces de faillite de résistance suite au déploiement de nouveaux cultivars. La caractérisation moléculaire de gènes de résistance du riz et des gènes d'avirulence correspondants de *M. oryzae* permet de comprendre les mécanismes associés aux faillites de résistance, afin de proposer des solutions innovantes pour les éviter à l'avenir. Nous présenterons plusieurs études de cas d'évolution des gènes d'avirulence au sein des populations de *M. oryzae* et nous proposerons des hypothèses générales sur l'adaptation de cet agent pathogène aux résistances variétales. En outre, sur la base de la caractérisation phénotypique des interactions et de données de génétique des populations de l'agent pathogène, nous montrerons qu'un processus de coévolution long a conduit à la formation de lignées pathogènes présentant une adaptation différentielle sur différents sous-groupes génétiques de riz (*indica-japonica*).

**The blast fungus secretes cytokinins to inhibit plant defenses and drain nutrients from rice tissues.**

E. Chanclud[1], A. Kasiala[2], N. Emery[2], A. Gravot[3], N. Marnet[3], V. Chalvon[4], T. Kroj[4] et J.B. Morel[4]

*[1]UM2, UMR BGPI INRA/CIRAD/SupAgro, 34398 Montpellier, France ; [2]Biology Department, Trent University, Peterborough, ON K9J 7B8, Canada ; [3]Université Rennes 1, UMR1349 IGEPP, 35000 Rennes, France ; [4]INRA, UMR BGPI INRA /CIRAD/SupAgro, 34398 Montpellier, France*

Rice blast, a fungal disease caused by *M. oryzae*, is a devastating disease of rice, a food staple for the half of the world's population. Understanding how *M. oryzae* colonizes and infects plants is important to help to develop resistant rice varieties or to manage disease control. Although *M. oryzae* produces CKs, their role in fungal physiology is still unclear. In this study, we used computational genome analyses to identify a homolog of a CK biosynthesis gene, annotated as a putative tRNA-ipt gene, in *M. oryzae*. Mutants disrupted in this tRNA-ipt gene cannot produce CKs, have reduced virulence, and fail to penetrate host tissue as effectively as the wild-type strains. Remarkably, the CK-deficient mutants failed to drain some nutrients at the infection site and elicited early and strong plant defenses indicating that fungal CKs could participate in host defense inhibition. We conclude that CKs act as metabolite effectors of *M. oryzae*. We propose that they function by inhibiting plant defenses, delaying host tissue senescence, and regulating nutrient flux in infected cells. Our work strengthen the view that hormonal/metabolic compounds produced by *M. oryzae*, and other pathogens function as disease effectors.

**Toxicité des composés extracellulaires produits par deux champignons impliqués dans la maladie du bois de la vigne.**

M. Bénard-Gellon, C. Bertsch et S. Farine

*Laboratoire Vigne Biotechnologie et Environnement EA 3991, Université de Haute-Alsace - 33, rue de Herrlisheim, BP 68008, Colmar Cedex, France*

Parmi les différentes préoccupations des professionnels, les maladies du bois de la vigne (principalement eutypiose, esca et Black Dead Arm) sont la priorité absolue de la filière depuis l'interdiction en 2001 de la seule molécule efficace, l'arsénite de sodium. Compte-tenu de sa toxicité pour l'homme et son environnement, son interdiction d'utilisation nous confronte aujourd'hui à une absence de moyens de lutte contre ces maladies complexes. Ces maladies préoccupent toujours les viticulteurs car elles provoquent la destruction de la souche, entraînant irrémédiablement la mort du cep.
Les maladies du bois sont associées à la présence de différents champignons capables de dégrader les tissus ligneux (1). Présents dans le tronc, ces champignons ne sont pas retrouvés au niveau des feuilles et des baies bien que ces dernières expriment des symptômes caractéristiques. L'hypothèse de molécules sécrétées par les champignons agissant à distance a donc été émise (2, 3).
Afin de pouvoir répondre à cette hypothèse, nous avons initié une étude de la caractérisation de l'interaction vigne–agents pathogènes.
Pour cela nous avons testé la phytotoxicité de composés extracellulaires de deux champignons de la famille des *Botryosphaeriaceae* (*N. parvum* et *D. seriata*) sur le modèle cals de *V. vinifera* cv Chardonnay.
Ces travaux nous ont permis de mettre en évidence une différence de production de métabolites secondaires tant d'un point de vue quantitatif que qualitatif entre les deux champignons étudiés.
Nous avons montré que les surnageants de culture ainsi que les protéines extracellulaires totales produites par *N. parvum* induisent davantage de nécroses et d'expression des gènes de défense sur les cals de Chardonnay que celles de *D. seriata*. De plus nous avons pu observer que la toxicité des surnageants totaux de cultures des deux champignons étudiés est supérieure à celle des protéines extracellulaires, elle-même supérieure à celle de la melléine, une toxine caractéristique des *Botryosphaeriaceae* (4, 5).
Il semblerait donc très probable qu'une action conjointe entre les protéines extracellulaires et les autres métabolites secondaires (comme les toxines ou les polysaccharides) soient impliquées dans la phytotoxicité des *Botryosphaeriaceae*.

**Références bibliographiques** : (1) Bertsch et al. 2013, *Plant Pathology 62:243-265* ; (2) Mugnai et al. 1999, *Plant Disease 83:404-418* ; (3) Andolfi et al. 2011, *Toxins 3:1569-1605* ; (4) Ramirez-Suero et al. 2014, *Protoplasma 251:1417-1426 ;* (5) Bénard-Gellon et al. 2015, *Protoplasma 252: 679-687*.

**Dynamique de la structure du microbiote associé aux semences lors de la germination levée.**

M. Barret[1,2,3], M. Briand[1,2,3], S. Bonneau[1,2,3], K. Durand[1,2,3], A. Préveaux[1,2,3], S. Valière[4], O. Bouchez[4], P. Simoneau[1,2,3] et M.A. Jacques[1,2,3]

*[1]INRA, UMR1345 Institut de Recherches en Horticulture et Semences, Beaucouzé, France ; [2]Agrocampus Ouest, UMR1345 Institut de Recherches en Horticulture et Semences, Beaucouzé, France ; [3]Université d'Angers, UMR1345 Institut de Recherches en Horticulture et Semences, SFR4207 QUASAV, PRES L'UNAM, Beaucouzé, France ; [4]INRA, GeT-PlaGe, Genotoul, Castanet-Tolosan F-31326, France*

Chez les spermatophytes, la graine est non seulement le vecteur principal du patrimoine génétique des plantes mais permet également la dissémination d'une flore microbienne abondante et diversifiée dont l'activité peut avoir des effets bénéfiques, neutres ou délétères pour la croissance et la santé des plantes. A ce jour, la composition des communautés microbiennes associées aux graines a été majoritairement appréhendée par des approches de type culture-dépendante et reste donc largement méconnue. Le premier objectif de notre projet de recherche est donc de mieux comprendre la structuration des communautés microbiennes inféodées aux semences. Pour ce faire, la composition du microbiote des semences de 28 types de plantes distinctes, représentant différents génotypes, variétés, espèces, genres et familles végétales a été étudiée à l'aide de marqueurs taxonomiques bactériens et fongique. Nos résultats indiquent une très grande hétérogénéité de richesse bactérienne entre les lots de semences, et cela au sein d'une même espèce végétale (de 5 à 300 OTUs). Par comparaison, la richesse fongique est moins variable avec une richesse médiane d'environ 50 OTUs par échantillon de semences. Afin d'appréhender la dynamique de ces communautés microbiennes lors de la germination-levée, la structure du microbiote des graines germées et des plantules a également été analysée. Dans nos conditions expérimentales, une diminution progressive de la diversité microbienne a été observée sur graine germée et plantule en conséquence de l'augmentation de l'abondance relative de certains taxons bactériens et fongiques. Des membres de ces taxons microbiens ont été fréquemment isolés d'autres compartiments végétaux tels que les racines, les feuilles ou les fruits, ce qui semble indiquer que la graine est une source d'inoculum importante pour la plantule.

**Identification of an aphid protein involved in *Turnip yellows virus* transmission by *Myzus persicae***

M. Rastegar[§], B. Monsion[#], S. Boissinot, M. Mulot, G. Clavijo, N. Bochet et V. Brault

*UMR INRA-UDS, Virus-Vection group, 28 rue de Herrlisheim, 68021 Colmar, France*
*Present address: [§]Shiraz University, Plant Protection Department, Shiraz, Iran ; [#]CNRS-IBMP 12 rue du Général Zimmer, 67084 Strasbourg, France*

*Turnip yellows virus* (TuYV) is a plant virus strictly transmitted by aphids. Virions are acquired when aphids ingest sap from infected plants. Virus particles cross the gut epithelium and the accessory salivary gland cells before being released, together with saliva, into the plant. This highly specific transcytosis mechanism relies on the presence of virus receptors on the surface of the aphid cells.
In order to identify TuYV receptors in *Myzus persicae*, the screening of different aphid cDNA libraries was conducted by developing a yeast two hybrid system using virus structural proteins as baits. Among the candidates, a transmembrane protein bearing fibronectin type-III domains (TaP3) localized at the plasma membrane was identified.
Involvement of TaP3 in virus uptake by the aphid was evaluated by RNA interference. Feeding aphids on transgenic *Arabidopsis thaliana* expressing an RNA hairpin targeting the TaP3 gene, reduces TaP3 mRNA accumulation in the aphids. Although the silencing of TaP3 had no major effect on aphid feeding or fecundity, the “silenced” aphids acquired less efficiently the virus when fed on purified TuYV by membrane feeding. These data show that inhibition of TaP3 expression altered virus internalization in the aphids. Moreover, the “silenced” aphids transmitted the virus at a lower rate suggesting the involvement of TaP3 in the transmission process of TuYV by *M. persicae*.

**VE1-Independent resistance to verticulum wiltin *M. truncatula* involves regulation by ABA, SA and auxin and a network of co-regulated genes related to PAMP-triggered immunity.**

M. Toueni, C. Ben, M. Mazurier, L. Gentzbittel et M. Rickauer

*Université de Toulouse, Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Environnement (ECOLAB), UMR 5245 CNRS/INPT/UPS, 18 chemin de Borderouge, Pôle de Biotechnologie Végétale, 31326 Castanet Tolosan, France*

Verticillium wilt caused by *Verticillium alfalfae* (*Va*) is a major constraint for production of alfalfa (*Medicago sativa*), a major forage crop worldwide. The model legume *Medicago truncatula* (*Mtr*) is also a host plant to *Va* and resistant and susceptible ecotypes have been identified (Ben et al., 2013). The reference line A17 was found to be resistant (R), whereas the French line F83005.5 was susceptible (S).
We confirmed the previously identified major resistance QTL in line A17 by Genome-Wide Association Studies with 242 *Mtr* lines, and found it to be widely distributed among ecotypes. The absence of expression of a weakly similar Ve1 homologue in *Mtr* and absence of the corresponding Ave1 avirulence gene in *Va* indicated that resistance in *Mtr* is different from that described in tomato (Fradin et al., 2009). In order to understand resistance mechanisms in A17, we studied the plant's response to the fungus by microscopy and a transcriptomics approach, after root inoculation with a spore suspension.
By using a GFP-expressing strain of *Va* isolate V31-2, we observed that initial colonisation of vascular tissues by the fungus was similar in the susceptible and resistant line. After 4 days, the fungus disappeared from roots of the resistant line, indicating efficient defence mechanisms of the plant, whereas colonisation continued in susceptible plants. Based on these observations we compared global gene expression in roots of both R and S *Mtr* lines at early stages, i.e. from 0 to 24 hours. Levels of mRNA and their identity were determined by Massive Analysis of cDNA Ends (MACE). Among the ca. 20000 expressed genes found in our MACE libraries, 0.3% and 1.6% responded specifically to inoculation in line A17 and F83005.5 respectively. Expression profiles obtained by MACE were validated by qRT-PCR on a subset of 24 genes. GOterm analysis revealed induction of defence-related genes in line A17, notably related to secondary metabolism, whereas stress response and ion homeostasis genes were down-regulated in the susceptible line.
Gene co-expression analysis of the response in resistant line A17 identified functional modules and putative key transcriptional factors driving the defence response against *Va* in the resistant line. The module putatively related to resistance contained most genes induced by inoculation, among them many involved in defence and in phytohormone signaling. The putative role of hormone signaling in resistance and defence against *Va* was supported by hormone pretreatment assays.

**Impact of nitrogen limitation on the response of Arabidopsis to pathogens**

M. Farjad, E. Wénès, M.C. Soulié et M. Fagard

*IJPB, INRA Centre de Versailles, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles*

Nitrogen (N) is essential for life and is a major limiting factor of plant growth. Because soils frequently lack sufficient N, large quantities of N fertilizers are added for crop production. However, N is a major source of global pollution, because much of the N that is not taken up by plants enters streams, groundwater, and lakes, where it affects algal production and imbalances aquatic food webs. Furthermore, agronomical data indicate that N fertilization has an impact on the incidence of crop diseases. Indeed the higher use of N fertilizers during the green revolution led to an increase in the incidence of several plant diseases. However, there are also examples in which a decrease in N fertilization promotes disease indicating that there is a complex relationship linking N uptake and metabolism to plant disease. Although it is clear that N availability affects disease, the underlying mechanisms remain unclear. Our goal is to better understand the mechanisms that link the plant's N status to its response to pathogen infection and to identify key regulators that allow plants to adapt their biotic stress response to N availability. We showed that N limitation reduces the non-host resistance of Arabidopsis to *E. amylovora* but increases the resistance of Arabidopsis to *B. cinerea* (Fagard et al, 2014, J. Exp Bot 65: 5643-5656). We will determine which aspects of the interaction are affected by N limitation (defense expression, transcriptome, metabolome). We are currently analyzing the results of a transcriptome combining nitrogen limitation and biotic stress. Our preliminary analysis indicates that a significant number of genes, including defense-associated genes, show a response to the combined stresses that could not be predicted from their profile in response to the each individual stress.

**Génomique fonctionnelle du métabolisme de défense de la vigne.**

D. Halter, S. Wiedemann-Merdinoglu, L. Negrel, C. Rustenholz, G. Arista, R. Baltenweck, A. Poutaraud, V. Dumas, M.A. Dorne, M.C. Lacombe, D. Merdinoglu et P. Hugueney

L'UMR « Santé de la Vigne et Qualité du Vin » de l'INRA de Colmar conduit un programme de création de nouveaux cépages produisant des vins de qualité et dotés de résistances durables au mildiou (*Plasmopara viticola*) et à l'oïdium (*Erysiphe necator*), grâce à l'exploitation de sources de résistance issues d'espèces de *Vitis* sauvages. Parallèlement à la présence de gènes de résistances, la biosynthèse de métabolites secondaires apparaît comme un facteur déterminant des défenses des plantes, ce qui motive le programme de recherche sur la génomique fonctionnelle du métabolisme de défense de la vigne. Ce programme se base en particulier sur des approches de métabolomique non ciblée portant sur une core-collection de *Vitis vinifera* reflétant la diversité génétique au sein de cette espèce. Le but est de rechercher chez la vigne cultivée des métabolites associés à une moindre sensibilité à *P. viticola*. Nous présenterons des résultats récents associant phénotypage à haut débit, analyses métabolomiques non ciblées en spectrométrie de masse à haute résolution ainsi que les méthodes utilisées pour le traitement des données générées.

**Multiple steps control immunity during the legume rhizobia symbiotic interaction**

F. Berrabah, B. Gourion et P. Ratet

*Institut des Sciences des Plantes de Paris Saclay. UMR Université Paris Sud ; INRA 1403 ; CNRS 9213 ; Université Paris Diderot ; Université Evry Val d'Essonne, Bâtiment 630 - Rue Noetzlin. 91405 Orsay Cedex*

*Medicago truncatula* belongs to the legume family and forms symbiotic associations with nitrogen fixing bacteria called rhizobia. During these interactions, the plants develop root nodules in which bacteria invade the plant cells and fix nitrogen for the benefit of the plant. One characteristic of this interaction is the high level of symbiotic organ infection by the bacterial partner. Despite this massive infection, legume nodules do not develop visible defense reactions. This may result from avoidance by the bacteria and/or of a special immune status of the symbiotic organs. Some factors influencing rhizobium maintenance within the plant cells have been previously identified, such as the *M. truncatula* NCR peptides whose toxic effects are reduced by the bacterial protein BacA. We have identified *DNF2* (*Does Not Fix nitrogen 2*) and *SymCRK* (*Symbiotic Cysteine Rich Kinase*) as two *Medicago* genes required to prevent plant defenses after bacteria internalization into the symbiotic cells (1-2). The *RSD* gene was also suggested to be involved in this process. In addition we have shown that environmental factors can modulate the immunity response to rhizobia (3). In order to identify bacterial factors possibly involved in defense elicitation, *dnf2*, *symCRK* and *rsd* mutants were inoculated with various *S. meliloti* mutants. Amongst them, the *S. meliloti bacA* mutant, affected in intracellular survival, did not elicit defenses when nodulating the *symCRK* and *rsd* mutants.
Our data suggest that after rhizobia internalization into the plant cells, immunity is controlled by different mechanisms acting at different time points (4). Inside the plant cells, the earliest checkpoint involves *DNF2* and the later step(s) rely on *SymCRK* and *RSD* genes. Our data illustrate an unexpected complexity in the symbiotic control of legume plants immunity.

**Full elucidation of the hitherto unknown structure of of albicidin, a potent antibiotic produced by *Xanthomonas albilineans***

S. Cociancich[1], A. Pesic[2], D. Petras[2], S. Uhlmann[2], J. Kretz[2], V. Schubert[2], L. Vieweg[2], S. Duplan[1], M. Marguerettaz[1], J. Noëll[1], I. Pieretti[1], M. Hügelland[2], S. Kemper[2], A. Mainz[2], P. Rott[1,3], M. Royer[1] et R. D. Süssmuth[2]

*[1]Cirad, UMR BGPI, F-34398 Montpellier cedex 5, France ; [2]Institut für Chemie, Technische Universität Berlin, D-10623 Berlin, Germany ; [3]Present address: University of Florida, IFAS, Everglades Research & Education Center, Belle Glade, FL, USA*

Albicidin is a potent DNA gyrase inhibitor produced by the sugarcane pathogenic bacterium *Xanthomonas albilineans*. As such, this molecule blocks the differentiation of chloroplasts, resulting in appearance of narrow white stripes on sugarcane leaves that are characteristic of leaf scald disease. Albicidin targets the bacterial gyrase by a mechanism that is different from the one of other DNA gyrases inhibitors like coumarins or quinolones [1]. It also exhibits antibacterial activity at nanomolar concentrations against *Escherichia coli* and to a lower extent against numerous Gram-negative and -positive human pathogenic bacteria [2].

A decade of intense work was necessary to decipher albicidin's biosynthetic pathway and to elucidate its astonishing never-seen-before structure. Albicidin is produced by a hybrid PKS/NRPS (polyketide synthase/non ribosomal peptide synthetase) system. Such ribosome-independent systems consist of modular megasynthetases which operate in an assembly-line fashion to activate, modify and link mostly unusual aminoacid building blocks, finally resulting in complex bioactive peptide-like molecules. The structure of albicidin, which was predicted by former *in silico* sequence analyses of its PKS/NRPS gene cluster [3], was ascertained by means of mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. We were able to demonstrate that albicidin exhibits a linear polyaromatic penta-peptidic structure containing the rare aminoacids para-aminobenzoate and cyanoalanine [4]. The determination of the structure of albicidin allowed the development of a protocol for the chemical synthesis of this complex molecule. Consequently, new research, such as structure-activity relationship studies, will now be possible [5].

New insights into biosynthesis pathway and structural determination for albicidin will be presented.

**Références bibliographiques :**

[1] Hashimi *et al.,* 2007, Antimicrob. Agents Chemother. 51, 181-187. [2] Birch and Patil, 1985, US Patent 4,525,354. [3] Royer *et al.,* 2004, Mol. Plant Microbe Interact. 17, 414-427. [4] Cociancich *et al.,* 2015, Nat. Chem. Biol. 11, 195-197. [5] Kretz *et al.,* 2015, Angew. Chem. Int. Ed. 54, 1969-1973.

**The SWEET family of sugar transporters in grapevine: VvSWEET4 is involved in the interaction with *Botrytis cinerea*.**

J. Chong[1], D. Merdinoglu[2,3], C. Bertsch[1] et P. Mestre[2,3]

*[1]Laboratoire Vigne, Biotechnologies et Environnement (LVBE, EA3991), Université de Haute Alsace, 33 rue de Herrlisheim, 68000 Colmar, France ; [2]INRA, UMR 1131 Santé de la Vigne et Qualité du Vin, F-68000 Colmar, France ; [3]Université de Strasbourg, UMR 1131 Santé de la Vigne et Qualité du Vin, F-68000 Colmar, France*

Sugar transport and partitioning play key roles in the regulation of plant development and responses to biotic and abiotic factors. During plant/pathogen interactions, there is a competition for sugar that is controlled by membrane transporters and their regulation is decisive in the outcome of the interaction (Lemoine et al., 2013).
The plant SWEET family of sugar transporters is a recently identified class of sugar transporters involved in sugar export playing important roles in nectar production as well as seed and pollen development. In rice, SWEET transporters are the target of extracellular bacteria, which have evolved sophisticated mechanisms to modify their expression and acquire sugars to sustain their growth (Chen et al., 2010).
Grapevine (*Vitis vinifera*) is an economically important crop that is susceptible to diverse pathogens. The regulation of carbon allocation and sugar partitioning in the interaction between grapevine and its pathogens is poorly understood. We have identified and characterized the SWEET family of sugar transporters in *Vitis vinifera*. We identified 17 *SWEET* genes in the *V. vinifera* 40024 genome and show that they are differentially expressed in vegetative and reproductive organs. SWEET transporters are also differentially expressed after inoculation of grapevine with biotrophic and necrotrophic pathogens. Infection with the necrotroph *Botrytis cinerea* triggered a strong up-regulation of *VvSWEET4* expression. Further characterization of *VvSWEET4* revealed that it is a glucose transporter localized in the plasma membrane and up-regulated by inducers of reactive oxygen species and virulence factors from necrotizing pathogens. Finally, Arabidopsis knockout mutants in the orthologous *AtSWEET4* were found to be less susceptible to *B. cinerea*. We propose that stimulation of expression of a developmentally-regulated glucose uniporter by reactive oxygen species production and extensive cell death after necrotrophic fungi infection could facilitate sugar acquisition from plant cells by the pathogen.

**Transcriptome analysis of the infection cushion of *Botrytis cinerea***

M. Choquer*, E. Loisel, I. R. Gonçalves, C. Rascle, C. Bruel et N. Poussereau

*Botrytis cinerea* is an ascomycete responsible for gray mould on hundreds of dicot plants. This necrotrophic fungus is thought to enter the host mainly by producing degrading enzymes and causing an oxidative burst rather than using physical pressure. Appressorium-like structures depicted as swollen tips growing from a germinated conidiospore have been found frequently. These primary infection structures are not highly melanized and not always separated from the germ tube by a septum, which would be necessary for the generation of an osmotic pressure. On the other hand, when plants are infected with mycelium, a different form of penetration has been observed, whereby hyphae growing on the plant surface heavily ramify into shortbulbous cell aggregates, similar to the melanized “infection cushion” (IC) of the closely related fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. The importance of IC in fungal penetration has not yet been molecularly investigated in *B. cinerea*.
A microarray analysis was conducted to identify genes that may putatively function as key determinants for the role of infection cushions in *B. cinerea*. The formation of IC was obtained from conidiospores germinated in the presence of exogenous nutrients on the surface of a cellophane membrane and hybridizations of cDNAs were performed on a Nimblegen chip. Our analysis revealed 2093 genes up-regulated and 1755 genes down-regulated during IC development relatively to undifferentiated hyphae. Transcriptome profiling uncovered metabolic and regulatory processes dedicated to the plant penetration.

**Etude de la transmission de l'ampélovirus *Grapevine Leafroll-associated virus* 1 et du vitivirus *Grapevine virus A* par la cochenille *Phenacoccus aceris*.**

A. Alliaume[1], M. Uzest[2], C. Prator[3], M. Beuve[1], C. Reinbold[1], G. Hommay[1], R.P.P. Almeida[3], O. Lemaire[1] et E. Herrbach[1]

*[1]UMR INRA-UDS 1131, Santé de la Vigne et Qualité du Vin, 28 rue de Herrlisheim, 68021 Colmar, France ; [2]UMR INRA BGPI TA A-54/K, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier, France ; [3]Department of Environmental Science, Policy and Management, College of Natural Ressources, University of California, Berkeley, CA 94720*

La vigne est hôte de près de 70 virus et viroïdes, le plus souvent en multi-infection, l'enroulement de la vigne étant une des viroses les plus dommageable à l'échelle mondiale. Cette pandémie en expansion dans tous les vignobles du monde, peut être induite par quatre virus appartenant à la famille des *Closteroviridae* (GLRaV-1, -2, -3, -4-like). Tandis que le GLRaV-2 (genre *Closterovirus*) n'a pas de vecteur connu et ne se propage pas au vignoble, les trois autres (*Ampelovirus*) sont spécifiquement transmis par cochenilles (*Pseudococcidae* et *Coccidae*) et se propagent rapidement dans et entre les vignobles.
Le GLRaV-1 et le GVA sont des virus restreints aux tissus phloémiens de leur plante hôte. Leur transmission par cochenilles répond aux critères du mode semi-persistant et non-circulant (Tsai et al., 2008). Récemment (Le Maguet et al., 2013), la capacité de vection d'ampélovirus et de vitivirus par la pseudococcide *Phenacoccus aceris* a été démontrée. Cependant, les paramètres biologiques de la transmission et la zone de rétention précise des particules virales dans le vecteur sont encore mal connus à ce jour.
Pour répondre à ces questions, des expériences de transmission nous permettent de caractériser les paramètres biologiques de la transmission, comme le temps minimum nécessaire à l'acquisition et à l'inoculation de ces virus, ou leur temps de rétention maximal par la cochenille. Enfin, l'anatomie des pièces buccales a également été étudiée, ainsi que la zone de rétention des particules virales au sein du vecteur. Ces connaissances nous permettront de mieux comprendre les éléments clés de la transmission des ampélovirus par cochenille et d'imaginer de nouvelles stratégies de contrôle de l'enroulement viral de la vigne.

Projet financé par l'INRA, le CIVA, le CIVC, le BIVB, FranceAgriMer et une bourse Dufrenoy.

**Découverte d'un nouvel ORF cryptique chez les polerovirus et luteovirus nécessaire au mouvement systémique viral**

E. Smirnova[1], A.E. Firth[2]*, W.A. Miller[1,3], D. Scheidecker[1], V. Brault[4], C. Reinbold[4], A.M. Rakotondrafara[5], Betty Y.-W. Chung[6] et V. Ziegler-Graff[1]

*[1]Institut de Biologie Moléculaire des Plantes CNRS-UPR 2357, associée à l'Université de Strasbourg, 67084 Strasbourg, France ; [2]Department of Pathology, University of Cambridge, Tennis Court Road, Cambridge CB2 1QP, UK ; [3]Department of Plant Pathology and Microbiology, 351 Bessey Hall, Iowa State University, Ames, Iowa 50011, USA ; [4]UMR 1131 SVQV INRA-UDS, 28 rue de Herrlisheim, 68021 Colmar, France ; [5]Department of Plant Pathology, University of Wisconsin, 1630 Linden Drive, Madison, Wisconsin 53706, USA ; [6]Department of Plant Sciences, University of Cambridge, Downing Street, Cambridge CB2 3EA, UK*

Les virus de la famille des *Luteoviridae* possèdent un petit génome à d'ARN (5.2 à 6.3 kb) codant pour 6 phases de lecture ouvertes (ORF). Un ARN subgénomique permet d'exprimer trois protéines, CP, CP-RT et P4, toutes impliquées dans le mouvement du virus dans la plante. Nous venons d'identifier par une analyse bioinformatique un nouvel ORF (ORF3a) conservé parmi les genres *Luteovirus* et *Polerovirus* de la famille des *Luteoviridae*, initié à partir d'un codon non conventionnel et positionné en amont des 3 ORF exprimés à partir de l'ARN subgénomique.
L'analyse fonctionnelle de cette nouvelle protéine P3a a été menée avec un *Polerovirus*, le virus de la jaunisse du navet (TuYV). Son expression *in vivo* a été confirmée par immunodétection. L'utilisation de mutants viraux incapables d'exprimer la protéine P3a a permis de montrer que celle-ci n'est pas requise à la réplication virale dans les protoplastes de *Chenopodium quinoa*, ni dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* inoculées. Par contre, le mouvement à longue distance des virus mutants dans les plantes est inhibé en son absence. En co-exprimant dans les plantes la protéine P3a et un mutant incapable de la synthétiser, il a été possible de complémenter en *trans* la fonction déficiente. Enfin, des études de localisation subcellulaire de la protéine P3a fusionnée à un marqueur fluorescent ont révélé un double adressage, l'appareil de Golgi et les plasmodesmes, ce qui est parfait accord avec un rôle essentiel pour la protéine P3a dans le mouvement viral.
Cette découverte révèle la richesse des stratégies développées par les virus pour traduire plusieurs protéines à partir d'un ARN messager unique. Il est très probable qu'une régulation de l'expression génique semblable soit mise en oeuvre chez d'autres virus et pathogènes mais également chez leurs hôtes eucaryotiques.

Ref. : Smirnova et al. 2015 PLoS Pathogens, sous presse.

## *Biosensing* de l'ARN double-brin *in vitro* et *in vivo*

B. Monsion*, K. Hleibieh et C. Ritzenthaler.

*Institut de biologie moléculaire des plantes du CNRS, Université de Strasbourg, 12 rue du général Zimmer, 67084 Strasbourg cedex, France.*

Notre équipe a récemment développé des outils de détection et de suivi ou *biosensing* des virus responsables de la maladie du court-noué de la vigne (le *Grapevine fanleaf virus*, GFLV et l'*Arabis mosaic virus*, ArMV). Pour cela nous avons produit des *Nanobodies* (courts peptides issus d'anticorps à chaînes lourdes de camélidés) dirigés contre la capside du GFLV. Lorsqu'ils sont exprimés de manière constitutive en fusion à une protéine fluorescente, ces biosenseurs permettent le suivi spatio-temporel du GFLV *in planta*. Si cette approche de *biosensing* s'avère très performante, elle est limitée à un virus donné et le développement de sondes contre d'autres virus passe obligatoirement par la production de nouveaux *Nanobodies* ce qui peut s'avérer long et couteux.
Notre objectif a été de développer des *Nanobodies* « universels » permettant de reconnaître tout type de virus en partant du principe que la réplication des virus à ARN conduit à la production d'ARN double-brin de forme A. C'est sur ce principe que nous avons développé un peptide hautement spécifique de la structure de l'ARN double-brin que nous avons produit en bactérie et *in planta*. Nous avons démontré *in vitro* que sa fusion à une protéine fluorescente n'altère pas sa fonctionnalité. En plante, l'expression constitutive de ce biosenseur a permis la détection de sites de réplication de nombreux virus appartenant à différents genres (*Nepovirus*, *Polerovirus, Potexvirus, Potyvirus, Tobamovirus*).
Dans les plantes transgéniques saines, le biosenseur adopte une localisation nucléo-cytoplasmique, tandis que lors d'une infection virale celui-ci est massivement relocalisé au niveau des complexes de réplication viraux généralement en périphérie du noyau.
Nous disposons ainsi de plantes biosenseurs permettant de suivre l'infection *in vivo* de nombreux virus, dont certains pour lesquels aucun moyen de suivi dynamique spécifique n'était encore disponible.

**Mécanismes moléculaires de l'interaction entre le riz et les nématodes à galles**

Anne-Sophie Petitot[1], Maíra Grossi-de-Sá[1], Alexis Dereeper[1], Janice De Almeida-Engler[2], Hugues Baimey[3], M. Fatima Grossi-de-Sá[4] et Diana Fernandez[1]

*[1] UMR 186 RPB (IRD-UM2-Cirad) 911, avenue Agropolis BP 64501 34394 Montpellier Cedex 5, France, [2]UMR IBSV INRA/CNRS/UNS, 400, Route de Chappes BP167 06903 Sophia Antipolis Cedex France, [3] Université de Parakou/Ecole Nationale Supérieure des Sciences et Techniques Agronomiques de Djougou, Benin,*
*[4] Embrapa Recusos Geneticos e Biotecnologia- Parque Estação Biológica, Av. W5 N - 70770-917 – Brasília-DF, Brazil*

Les parasites ont développé des stratégies d'infection sophistiquées de leur hôte pour accomplir leur cycle biologique. En particulier, les nématodes du genre *Meloidogyne* secrètent *via* leur stylet des effecteurs de virulence dans les tissus de la plante qu'ils parasitent, et induisent ainsi la formation de sites nourriciers constitués de cellules géantes dans les racines. Le riz (*Oryza sativa*), culture vivrière et ressource alimentaire de première importance pour de nombreux pays tropicaux, est une espèce végétale modèle attrayante pour l'étude fine des interactions plante-parasites. En Asie et au Brésil, l'espèce *M. graminicola* peut être responsable d'importantes pertes de récolte en culture irriguée. En Afrique de l'Ouest, des prospections ont isolé des *M. incognita* et *M. javanica* sur du riz pluvial. Nos recherches basées sur le couple modèle riz-*Meloidogyne* spp. visent à décrypter les mécanismes moléculaires qui régissent les interactions entre la plante et les nématodes à galles. La résistance de l'espèce Africaine *Oryza glaberrima* (variété TOG5681) à *M. graminicola* s'exprime à plusieurs étapes du processus infectieux, de la pénétration jusqu'à la formation des oeufs, alors que pour *M. incognita* une résistance exprimée rapidement après la pénétration bloque totalement le développement du nématode. Au plan moléculaire, les gènes marqueurs de défense activés chez *O. glaberrima* sont supprimés chez *O. sativa* au cours de l'interaction, suggérant une modulation de l'immunité de la plante par le nématode. Par une approche de double RNA-seq nous avons identifié des effecteurs de virulence candidats spécifiquement exprimés par *M. graminicola* au cours du cycle infectieux chez les plantes sensibles et résistantes. En parallèle, nous avons entrepris l'analyse fonctionnelle de quelques protéines candidates de *M. incognita* et *M. javanica* pour évaluer leur rôle dans la virulence chez le riz. A plus long terme, les connaissances obtenues sur ces protéines seront utiles pour comprendre comment le parasite manipule le système de défense et détourne le métabolisme de la plante à son profit.

**Session 3 : Epidémiologie aux différentes échelles, génétique des populations et écologie évolutive du parasitisme et de la symbiose**

**« Une Santé » : santé humaine, santé animale et gestion de l'environnement.**

**Et la santé végétale dans tout ça ?**

Ivan Sache

*AgroParisTech, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris Cedex 05*

Suite à la récurrence et à la mondialisation des risques sanitaires, un concept unificateur a émergé récemment : « Une Santé » (*One Health*) se présente comme un triptyque entre santé humaine, santé animale et gestion de l'environnement. Les enjeux de santé végétale restent curieusement absents de cette approche « cohérente et globale » de la santé. Je montrerai dans cette présentation que les similitudes épidémiologiques entre maladies humaines, animales et végétales justifient pleinement que la santé végétale, quelle que fût son idiosyncrasie, soit incorporée au concept « Une Santé ».
Les impacts directs des maladies des plantes sont certes moins importants qu'en santé humaine et animale, mais leur coût socio-économique et écosystémique reste mal connu. En revanche, les méthodes de surveillance et de gestion en santé végétale convergent de plus en plus vers celles utilisées en santé humaine et animale, suite à l'*aggiornamento* de l'épidémiologie végétale en marche depuis plusieurs décennies.
J'illustrerai au cours de cette présentation les apports de l'épidémiologie humaine et animale à l'évolution des concepts et méthodes de l'épidémiologie végétale, ainsi que l'influence de champs disciplinaires en plein essor, tels l'écologie et la génétique des populations. Je ferai le point sur les applications opérationnelles qui découlent de ces mises à jour. Je défendrai la nécessité du passage de la protection des plantes à la gestion écosystémique de la santé végétale et de l'établissement d'un nouveau « contrat social » avec les maladies et ravageurs. Je conclurai en évoquant les compétences professionnelles nécessaires à cette transformation inéluctable et les enjeux de formation associés.

**Caractérisation de l'inoculum aérien de *Botrytis cinerea* pour la prévision des épidémies de pourriture grise.**

C. Leyronas[1], P.C. Nicot[1], F. Halkett[2], O. Martin[3] et S. Soubeyrand[3]

*[1]INRA, UR 407, Pathologie Végétale, F-84140 Montfavet ; [2]INRA, UMR 1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54280 Champenoux ; [2]Université de Lorraine, UMR 1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54500 Vandoeuvre-lès-Nancy ; [3]INRA, UR 546, Biostatistique et Processus Spatiaux, F-84914 Avignon*

*Botrytis cinerea* est un champignon à dissémination aérienne, responsable de la pourriture grise. Il peut attaquer plus de 200 espèces végétales dont certaines présentent un intérêt agronomique et économique (vigne, tomate, laitue, etc…). La protection des cultures se fait essentiellement par application de fongicides de façon préventive et curative, et par la gestion du climat pour les cultures sous serre. Afin de limiter les intrants chimiques et énergétiques par une utilisation optimisée des outils de protection des cultures, nous souhaitons concevoir un modèle de prévision de l'abondance d'inoculum de *B. cinerea* dans l'air. Pour ce faire, il est nécessaire d'acquérir des connaissances sur cet inoculum.
Dans cet objectif, nous avons caractérisé l'inoculum aérien de *B. cinerea* présent dans l'air sur un site en périphérie d'Avignon. Nous avons réalisé un monitoring s'étalant sur 3 années, à raison d'un échantillonnage d'air toutes les deux semaines. La quantité journalière de spores/$m^3$ d'air a été calculée. Les isolats collectés à 29 dates ont été génotypés à l'aide de 9 marqueurs microsatellites. Les relations entre la quantité d'inoculum, ses caractéristiques génétiques, et les paramètres météorologiques locaux ainsi qu'avec l'origine de la masse d'air ont été étudiées.
L'étude a montré que de l'inoculum viable était présent dans 96% des échantillons. Son abondance était significativement plus élevée pendant la journée que pendant la nuit. De plus, elle était positivement corrélée avec l'humidité relative moyenne journalière et négativement corrélée avec la température de l'air et le rayonnement solaire. L'analyse des rétro-trajectoires des masses d'air a montré que celles provenant du Nord ou du Sud tendaient à apporter plus inoculum que celles venant de l'Ouest (Leyronas & Nicot, 2013).
En complément, 683 isolats ont été génotypés. Parmi les 616 isolats appartenant à l'espèce *B. cinerea* (le reste correspondant à l'espèce cryptique *B. pseudocinerea*), huit groupes génétiques ont été identifiés par analyse d'assignation. L'abondance des isolats dans chaque cluster montrait une variation temporelle et était statistiquement liée à la saison ($P = 0,0009$) et à l'origine des masses d'air ($P < 0,0001$) (Leyronas et al., 2015).
Cette étude est la première à fournir des informations sur les caractéristiques génétiques de l'inoculum aérien de *B. cinerea*. De plus, elle apporte des preuves concernant l'origine locale mais également plus lointaine de l'inoculum aérien de *B. cinerea* présent dans la région d'Avignon. Ces données sont utilisées pour la mise au point d'un modèle de prévision.

**Dynamique épidémique des pathologies de la vanille Tahiti dans une zone de production Polynésienne : une étude de cohorte.**

T. Atuahiva[1,2,3], A. Labat[2], M. Dron[3], C. Dillmann[2] et J. Legrand[2]

*[1]Etablissement Vanille Tahiti, BP 912, Uturoa, 98735 Polynésie française; [2]UMR Génétique Quantitative et Évolution Le Moulon, Université Paris Sud/INRA/CNRS/ AgroParisTech, Ferme du Moulon, Gif-sur-Yvette 91190, France; [3]Institut Plant Sciences Paris-Saclay, UMR9213/UMR1403, CNRS, INRA, Université Paris sud, Université d'Evry Val d'Essonne, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Bâtiment 630, 91405-Orsay cedex*

La vanille est une orchidée dont les gousses et les graines génèrent des arômes très appréciés en industries agro-alimentaires et en parfumerie. Alors que la demande industrielle en vanille naturelle est grandissante, cette production stagne, voire diminue depuis 5 à 10 ans. Les raisons possibles de cette régression sont multiples, et l'augmentation de la pression phytosanitaire[1] sur la production constitue l'une d'entre elles. Afin de comprendre l'impact sur la production de la présence de pathogènes dans les cultures de vanille, une étude épidémiologique a été menée sur 51 exploitations de vanille « Tahiti » sur l'île de Raiatea pendant 4 années consécutives, de 2010 à 2013. Cette étude a permis de décrire la dynamique spatio-temporelle de 6 pathologies et ravageurs de la vanille. Chaque année, entre 15 et 41 exploitations sont été visitées pour relever, tuteur par tuteur, la présence des signes cliniques associés à des pathogènes fongiques[2] (anthracnose, mildiou et fusariose), des virus, ou des bio-agresseurs (thrips et cochenilles[3]). Cette étude de cohorte a permis un suivi pluriannuel des trajectoires individuelles de l'état sanitaire de chaque tuteur. Au-delà de l'analyse de l'évolution temporelle de la prévalence, ce suivi individuel a permis d'étudier l'évolution de l'incidence des signes cliniques, mais aussi du taux de disparition des symptômes d'une année à l'autre. Trois types d'exploitations ont été étudiés, des exploitations sous ombrière ou des exploitations traditionnelles cultivant uniquement la variété « Haapape », et des exploitations mixtes cultivant un mélange d'au moins deux variétés. Dans ces dernières, seules les notations effectuées sur des lianes de la variété « Haapape » ont été conservées. L'évolution temporelle de la prévalence, de l'incidence, et du taux de guérison des symptômes ont été étudiés selon le type d'exploitation grâce à un modèle logistique GEE (équations d'estimations généralisées) permettant de prendre en compte les disparités entre exploitations d'un même type.

On observe, dans tous les types d'exploitations, une tendance à l'augmentation entre 2010 et 2013 de la prévalence de l'anthracnose (de 10 % environ en 2010 à 20 % environ en 2013), des cochenilles (de 10 % à 30%) et des thrips (de 15 % à 35%), alors que la prévalence des virus reste proche de zéro, sauf dans les exploitations traditionnelles (autour de 20 % en 2012-2013). La prévalence des symptômes du mildiou présente une signature temporelle particulière, avec des valeurs relativement faibles sauf en 2011 ou elle atteint environ 20 %. Enfin, la fusariose est identifiée comme le pathogène le plus présent[2], avec une prévalence moyenne très élevée comprise entre 60 % (2010) et 90 % (2013), à l'exception de l'année 2011 où la prévalence se situe autour de 30 %.

L'étude de l'évolution de l'incidence et du taux de disparition des symptômes permet d'expliquer l'épidémiologie des maladies observées dans les exploitations. Pour l'anthracnose, l'incidence reste constante et faible, avec un taux élevé de disparition des symptômes (80%), qui pourrait être attribué à des pratiques de toilettage. L'augmentation

progressive de la prévalence s'explique donc par un phénomène de vieillissement des lianes. Pour le mildiou, l'incidence est élevée en 2011 et diminue par la suite, avec un taux de disparition des symptômes comparable à celui de l'anthracnose. Le phénomène épidémique de 2011 pourrait être dû à des conditions climatiques particulières. Enfin, l'augmentation de la prévalence de la fusariose s'explique par la conjonction d'une forte augmentation de l'incidence et d'une forte diminution du taux de disparition des symptômes après 2011.

Le faible taux de disparition des symptômes pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs : un faible nettoyage des lianes infectées, une propagation rapide des symptômes ou une ré-infection des lianes via l'environnement. L'analyse des pratiques agronomiques des agriculteurs chez lesquels l'enquête épidémiologique a été menée est en cours et pourrait permettre de déterminer si le développement important de la fusariose est relié à des changements dans les méthodes de conduite des vanilleraies. Comprendre les causes de cette forte prévalence de la fusariose à Raiatea, comme manifestement dans les autres zones de production du monde, permettra à terme de déterminer les stratégies de lutte contre cette épidémie.

*Ce projet a été financé par l'ANR Net-Biome, Vabiome et par l'EVT. Les auteurs remercient Ivan Sache (AgroParisTech), Michel Grisoni (Cirad) et Sandra Lepers (EVT) pour leurs discussions stimulantes, leurs encouragements et leur soutien.*

**Diversification du phytopathogène émergent *Dickeya solani* via des tranferts horizontaux intra et inter-espèces.**

S. Khayi[1,2], P. Blin[1], J. Pédron[6], M. Moumni[2], V. Hélias[3,4], F. Van Gijsegem[5] et D. Faure[6]

*[1]Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC), CNRS CEA Université Paris-Sud, Saclay Plant Sciences, Avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette cedex, France ; [2]Université Moulay Ismaïl, Faculté des Sciences, Département de Biologie, BP 11201 Zitoune, Meknès, Marocco ; [3]Fédération Nationale des Producteurs de Plants de Pomme de Terre-Recherche développement Promotion du Plant de Pomme de Terre (FN3PT-RD3PT), 75008, Paris, France ; [4]UMR 1349 IGEPP INRA - Agrocampus Ouest Rennes, 35653, LeRheu, France ; [5]INRA, UMR 1392, IEES Paris (Institute of Ecology and Environmental Sciences), 46 rue d'Ulm, F-75005 Paris, France ; [6]UPMC Univ Paris 06, UMR 1392, IEES Paris (Institute of Ecology and Environmental Sciences), 46 rue d'Ulm, F-75005 Paris, France*

La jambe noire et la pourriture molle sont parmi les maladies bactériennes les plus dommageables lors de la production et du stockage des tubercules de pomme de terre. Les agents pathogènes responsables appartiennent à plusieurs espèces des genres *Dickeya* et *Pectobacterium*. Au cours des années 2000, un pathogène émergent a été identifié : *Dickeya solani*. Dans ce travail, une approche de génomique comparative a été associée à des analyses fonctionnelles afin de proposer un nouveau regard sur la structure et la diversité du pathogène émergent *D. solani*. Dans ce but, les génomes de 20 isolats issus d'environnements différents (lieu, année, plantes hôtes) ont été séquencés par des approches Illumina et PacBio. Les comparaisons génomiques montrent que certains isolats ont peu de divergence (de 45 à 85 SNPs/InDels). En revanche, d'autres isolats montrent des variations de quelques centaines à milliers de SNPs/InDels qui sont regroupés dans des îlots génomiques. Leur analyse phylogénétique révèle qu'ils ont été acquis par transferts horizontaux d'autres pathogènes. Par ailleurs, l'analyse des fonctions affectées par les SNPs/InDels a permis de prédire, puis de vérifier sur pomme de terre qu'un des isolats était avirulent. Cette étude représente une première description de transferts horizontaux inter et intra-espèces chez *D. solani* contribuant ainsi à sa rapide diversification génomique.

**Mapping QTL of aggressiveness traits in the poplar rust fungus.**

M. Pernaci, S. De Mita, B. Fabre, S. Duplessis, F. Halkett et P. Frey

*INRA, Université de Lorraine, UMR 1136 Interactions Arbres–Microorganismes (IAM), F–54280 Champenoux, France*

Poplar is an important product in Europe, both for the wood industry and for its increasing contribution to energy production systems. The main disease limiting the growth of poplar is poplar rust, caused by the basidiomycete *Melampsora larici-populina*. The selection of poplar cultivars with qualitative resistance has led to repeated failures since 1980, due to the breakdown of all the resistance types through the rise of new virulence factors. The search for more durable resistance has led breeders to focus on quantitative resistance. Meanwhile, pathologists have focused on the potential for rapid evolution of several fungal quantitative traits related to aggressiveness and dispersal potential (Lannou 2012). We used a quantitative genetics approach to determine whether such traits are heritable and directly impact the fitness of the pathogen, which can lead to rapid changes in pathogen populations in response to selection exerted by the host. Mapping the traits of interest requires the construction of a high-resolution genetic map of the fungus and the measurement of segregating traits in progeny. We adopted a strategy of genetic mapping by the re-sequencing, based on approximately 145,000 SNPs, of a S1 progeny derived from selfing of the 98AG31 strain (reference genome, 462 scaffolds). A preliminary analysis on 47 offspring allowed us to bring together 81 scaffolds in 23 linkage groups (Pernaci et al. 2014). A further analysis of 85 offspring allowed the completion of a high-density genetic map, comprising 18 chromosomes, with a total genetic length of 4,138 cM. A single virulence trait against *Populus deltoides* 'L270-3' (virX) segregates in the progeny, and was mapped on chromosome 17. Aggressiveness traits (latency period, infection efficiency, sporulation capacity, lesion size) and morphological traits (spore volume, length/width ratio) exhibit a clear segregation in this progeny. So far, three QTL for lesion size were mapped on chromosomes 7, 9 and 14.

**Références bibliographiques :**

Lannou C. 2012. Annual Review of Phytopathology 50: 319-338. Pernaci et al. 2014.. Frontiers in Plant Science 5: 454.

**The relationship between host lifespan and pathogen reservoir potential: an analysis in the system *Arabidopsis thaliana-Cucumber mosaic virus*.**

J. M. Hily[1,4], A. García[2], A. Moreno[3], M. Plaza[3], M.D. Wilkinson[2], A. Fereres[3], A. Fraile[1] et F. García-Arenal[1]

*[1]Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (UPM-INIA), and E.T.S.I. Agrónomos,Campus de Montegancedo, Universidad Politécnica de Madrid, Pozuelo de Alarcón (Madrid), 28223, Spain ; [2]Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (UPM-INIA), Campus de Montegancedo, Universidad Politécnica de Madrid, Pozuelo de Alarcón (Madrid), 28223, Spain ; [3]Instituto de Ciencias Agrarias, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (ICACSIC),Madrid, 28006, Spain ; [4]INRA-Université de Strasbourg, UMR 1131 Santé de la Vigne et Qualité du Vin, 68021 Colmar*

Identification of the determinants of pathogen reservoir potential is central to understand disease emergence (1). It has been proposed that host lifespan is one such determinant: short-lived hosts will invest less in costly defenses against pathogens, so that they will be more susceptible to infection, more competent as sources of infection and/or will sustain larger vector populations, thus being effective reservoirs for the infection of long-lived hosts (2-5). This hypothesis is sustained by analyses of different hosts of multihost pathogens (5). Here we examined this hypothesis by comparing two genotypes of the plant *Arabidopsis thaliana* that differ largely both in life-span and in tolerance to its natural pathogen *Cucumber mosaic virus* (CMV). Experiments with the aphid vector *Myzus persicae* showed that both genotypes were similarly competent as sources for virus transmission, but the short-lived genotype was more susceptible to infection and was able to sustain larger vector populations. To explore how differences in defense against CMV and its vector relate to reservoir potential, we developed a model that was run for a set of experimentally-determined parameters, and for a realistic range of host plant and vector population densities. Model simulations showed that the less efficient defenses of the short-lived genotype resulted in higher reservoir potential, which in heterogeneous host populations may be balanced by the longer infectious period of the long-lived genotype. This balance was modulated by the demography of both host and vector populations, and by the genetic composition of the host population. Thus, within-species genetic diversity for lifespan and defenses against pathogens will result in polymorphisms for pathogen reservoir potential, which will condition within-population infection dynamics. These results are relevant for a better understanding of host-pathogen co-evolution, and of the dynamics of pathogen emergence.

**Réferences bibliographiques**

(1) Haydon DT et al., 2002. Emerg Infect Dis 8: 1468-1473. – (2) Jones RAC (2009) Virus Res 141: 113-130. – (3) LoGiudice K et al. 2003. Proc Natl Acad Sci USA 100: 567-571. – (4) Kilpatrick AM et al. 2006. Proc R Soc B Biol Sci 273: 2327-2333. – (5) Cronin JP et al. 2010. Ecol Lett 13: 1221-1232.

**Joint estimation of effective population sizes and selection coefficients from time-sampled data: a case study on virus populations submitted to plant resistance.**

E. Rousseau[1,2,3], F. Fabre[4], J. Coville[5], L. Mailleret[1,2], A. Palloix[6], R. Senoussi[5], F. Grognard[1] et B. Moury[3]

*[1]INRIA, Biocore Team, F-06902 Sophia Antipolis ; [2]INRA, UMR 1355 ISA, 400 route des Chappes, BP 167, F-06903 Sophia Antipolis ; [3]INRA, UR407 Unité de Pathologie Végétale, F-84140 Montfavet ; [4]INRA, UMR 1065 Unité Santé et Agroécologie du Vignoble, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon ; [5]INRA, Unité BioSp, Domaine Saint Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon ; [6]INRA, UR1052 Unité de Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes, F-84140 Montfavet*

Recent results indicate that quantitative trait loci (QTL) of the host genetic background modulate the durability of major resistance genes to plant viruses (Quenouille *et al.* 2013, 2014). This is particularly interesting for plant breeders. Two biological mechanisms can explain such observations: (i) QTLs increase the genetic drift acting on virus population and (ii) QTLs decrease the selective advantage of the most adapted virus variants. Up to date, several methods have been proposed to estimate the intensity of drift when neutral genetic markers are available. However few methods allow to jointly estimate effective population sizes ($N_e$), which determine the intensity of genetic drift, and selection coefficients ($s$) when no neutral markers are available (Foll *et al.*, 2014).

Here, taking advantage of time-sampled data representing the frequency changes of within-host competing pathogens strains, we propose a modeling approach to jointly estimate the $N_e$ of a viral population and the selection coefficients associated to several loci involved in pathogenicity properties. Experiments were set up to follow the within-host dynamics of 5 *Potato virus Y* (PVY) variants in 15 pepper plant genotypes carrying the major resistance gene *pvr2*[3] and several QTL combinations. The PVY variants carried distinct mutations, each conferring weak to strong adaptation to *pvr2*[3]. We determined the frequency of virus variants within the host plants at 6 time points, from 6 to 34 days after inoculation, using high-throughput sequencing. Estimates of $N_e$ and of the selection coefficients $s$ of each variant were inferred for each pepper genotype by fitting mechanistic-statistical models relying on Lotka-Volterra equations and Dirichlet-multinomial distributions (Fabre *et al.,* 2012).

Results showed that the ranking of the selection coefficients among the 5 virus variants was identical in all plant genotypes but the selection differential between variants var0ied greatly from one plant genotype to another. Importantly, the fittest virus variants were the same in all plant genotypes and we did not identify any plant genotype that could counter select these variants. Results also indicated that $N_e$ was varying from 35 to 1200 depending on pepper genotypes and revealed contrasted patterns of genetic drift in the inoculated leaf and in systemically infected leaves. Whether plant genetic factors increasing the drift acting on virus populations could be used to slow down virus adaptation at larger scales (field, landscape) still remains to be investigated. More generally, the proposed methodology here is of wide interest to disentangle the relative roles of drift and selection without neutral loci using high-throughput sequencing and a

time-sampling scheme of independent hosts.

**Références bibliographiques :**

Fabre et al. 2012, PloS Path., 8(4), e1002654 ; Foll et al., 2014, PloS Genet., 10(2), e1004185 ; Quenouille et al. 2013, Mol. Plant Pathol, 14, 109-118 ; Quenouille et al. 2014, Heredity, 112, 579-587.

**Traité de Phytopathologie**

M. Choquer, M.-F. Corio-Costet, M. Dron, Ph. Lepoivre, I. Sache, F. Suffert et Ph. Reignault.

L'agriculture du XXIème siècle se trouve confrontée à un double défi. Au niveau mondial, la question de la capacité de la planète à nourrir ses habitants naît d'inquiétudes liées aux évolutions du rapport entre l'offre et la demande alimentaires. Cette interrogation suscite des réflexions et des prises de position sur l'évolution des systèmes de production, les formes d'organisation de l'économie mondiale agricole et la place qu'y occuperont les nouvelles pratiques et les nouvelles technologies. Dans le même temps, les consommateurs (principalement des pays les plus développés) expriment leur crainte grandissante vis-à-vis des risques d'ordre sanitaire et environnemental qui accompagnent la protection des cultures.
Malgré cette complexification croissante de la protection des cultures, peu d'ouvrages généraux ont été publiés en langue française pour présenter la synthèse des connaissances actuelles en phytopathologie.
Dans le cadre de leurs activités d'enseignement et de recherche, des spécialistes de différentes disciplines qui constituent la phytopathologie ont souhaité, avec l'aide active de membres de la Société Française de Phytopathologie, combler ce déficit et ont joint leurs compétences et leur enthousiasme pour rédiger une nouvelle édition du Traité de Phytopathologie sur les concepts liés aux maladies des plantes et les différentes approches associées :

- **La première partie** introduit les concepts généraux relatifs à la phytopathologie et insiste particulièrement sur les enjeux sociétaux majeurs associés à cette discipline.
- **La deuxième partie** décrit les grands groupes d'agents responsables de maladies, la spécificité de leur biologie et de la nature de leur relation avec les plantes.
- **La troisième partie** aborde successivement l'étude du pouvoir infectieux et de la résistance, avant de faire la synthèse des mécanismes des interactions parasitaires entre les plantes et les bioagresseurs décrits dans la partie précédente.
- **La quatrième partie** est consacrée aux spécificités de l'épidémiologie végétale, qui sera présentée en insistant sur la nécessité d'intégrer une dimension évolutive et spatio-temporelle globale.
- **La cinquième partie** décrit les différentes stratégies de lutte, ainsi que leur convergence vers le concept de gestion intégrée des cultures et tente de disséquer les principaux paramètres à prendre en compte dans le processus de prise de décision.
- **Enfin, la sixième et dernière partie**, à vocation davantage sociétale, sera orientée vers la notion de gestion du risque.

**Session 4 : Protection des plantes, résistance durable, nouvelles technologies et gestion des risques**

**Transferts de gènes de plantes transgéniques aux bactéries environnementales et impact sur le microbiote**

Pascal Simonet

*Groupe de génomique microbienne environnementale, Laboratoire AMPERE, Ecole Centrale de Lyon, Université de Lyon, 36 avenue Guy de Collongue 69134 Ecully Cedex.*

Parmi les risques liés à la culture au champ des plantes transgéniques, figure en bonne place celui d'un tranfert des gènes du transgène aux bactéries du sol et plus particulièrement du gène conférant la résistance à un antibiotique, marqueur le plus couramment utilisé. L'impact de ces événements de transfert comme celui lié à l'expression des gènes du transgène sur la structure taxonomique et fonctionnelle du microbiote tellurique sont également largement évoqués. Ces vingt dernières années, de nombreux travaux ont été consacrés à ces problématiques et je me prose d'en présenter une synthèse ainsi que les principales conclusions qui peuvent en être tirées. J'insisterai plus particulièrement sur les travaux réalisés sur des échantillons de sol sur lequel ont été plantées les vignes transgéniques développées pour lutter contre la maladie du court-noué (collaboration O. Lemaire, INRA Colmar) abordés en employant une approche metagénomique et les dernières technologies de séquençage. La sensibilité de ces approches permet d'apporter des réponses de plus en plus précises sur l'impact environnemental et sanitaire potentiel de cette biotechnologie qu'est la transgénèse végétale, fournissant aux décisionnaires politiques les arguments scientifiques sur lesquels étayer leurs futures décisions règlementaires.

**Criblage des endophytes du blé comme agents de protection biologique contre la Fusariose des épis : approches *in vitro*.**

M. Comby[1,2,3], M. Robineau[2], M. Gacoin[2], F. Rabenoelina[3], S. Ptas[2], J. Dupont[1], F. Baillieul[3] et C. Profizi[2]

*[1]Museum National d'Histoire Naturelle, UMR 7205 CNRS-MNHN, 75231 Paris ;[2]Etablissements J. Soufflet, 10402 Nogent sur Seine ; [3]Laboratoire de stress, défense et reproduction des plantes, URVVC EA 4707, Faculté des Sciences, 51687 Reims*

La fusariose des épis est l'une des principales maladies affectant les cultures de blé. Plusieurs espèces de champignons phytopathogènes sont responsables de la maladie, *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum* étant les espèces les plus répandues et les plus pathogènes. Dans le contexte actuel de réduction de l'usage des pesticides, la protection biologique semble prometteuse pour lutter contre les maladies telles que la fusariose. Les microorganismes naturellement présents dans les plantes et ne causant pas de dommage à leur hôte pourraient être de bons candidats comme agents de protection biologique. En effet ces microorganismes, appelés endophytes, sont bien adaptés à leur hôte et considérés comme de bons producteurs de métabolites secondaires, nécessaires à leur survie face aux réponses de défense de la plante.
L'objectif de l'étude était d'isoler les champignons et bactéries présents à l'intérieur du blé et de les tester *in vitro* et *in planta* pour leur aptitude à protéger le blé contre la fusariose. À cette fin, il était nécessaire de développer une méthode robuste de criblage pour la recherche d'agents de protection biologique contre cette maladie.
Les endophytes ont été isolés des organes aériens et des racines du blé. Les isolats obtenus ont été identifiés par biologie moléculaire. Cent souches ont été sélectionnées et criblées *in vitro* pour leur aptitude à inhiber le développement de *Fusarium* spp. Parmi ces souches, huit ont été criblées *in planta* pour leur aptitude à diminuer la fusariose en conditions contrôlées. Une approche par PCR quantitative a été développée pour la quantification de l'agent pathogène.
De nombreuses souches ont montré des résultats prometteurs *in vitro* pour le contrôle de *Fusarium* spp. Parmi les souches testées, deux souches ont conféré des taux de protection élevés contre *F. graminearum* sur matériel végéta l.
La recherche d'agents de protection biologique contre la fusariose des épis parmi les endophytes du blé semble prometteuse. Les résultats suggèrent que le criblage *in planta* serait plus pertinent que le criblage *in vitro*.

**De l'analyse de risque phytosanitaire à un outil d'aide à la décision pour la hiérarchisation des organismes nuisibles : BIORRS**

C. Tayeh, X. Tassus, D. Guinhut, X. Geguercy, E. Gachet et C. Manceau

*Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), Laboratoire de la Santé des Végétaux (LSV), Unité Expertise- Risques Biologiques*

Récemment, le ministère en charge de l'agriculture a saisi l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) pour la hiérarchisation d'une liste d'organismes nuisibles (insectes, bactéries, champignons, nématodes et virus) afin de servir de base à une catégorisation telle que définie dans le code rural et de la pêche maritime. La catégorisation définit des classes d'organismes nuisibles en fonction desquelles des moyens financiers seront attribués pour la mise en œuvre de mesures de lutte (surveillance et/ou éradication par exemple). L'objectif de cette catégorisation est de prioriser le déploiement de moyens en fonction du risque et de l'impact d'un organisme nuisible.

Pour réaliser ce travail, un outil d'aide à la décision a été développé couplant une base de données à un logiciel d'analyse multicritère. Les critères utilisés sont ceux définis dans une analyse de risque phytosanitaire (ARP ; FAO Normes Internationales pour les Mesures Phytosanitaires, n°11) : risque d'introduction, d'établissement, de dissémination et impact économique, social et environnemental. D'abord, la base de données permet de collecter de façon semi-automatisée et de stocker les données scientifiques et économiques, nécessaires au renseignement des critères. Ensuite, la base de données est couplée à une interface permettant d'afficher des données préalablement saisies et de guider l'utilisateur dans la saisie des données manquantes relatives aux couples « Organismes nuisibles/Plantes-hôtes » pour alimenter la base de données. Cette base de données, au-delà de son usage dans le cadre de ce projet, sera consultable pour d'autres requêtes. Ensuite, une étape d'exploitation des données en fonction de chacun des critères, fournit une matrice exploitable par des systèmes d'analyse multicritère tel que « VISUAL PROMETHEE ». De tels systèmes permettent également des variantes d'interprétation intéressantes par la pondération des critères. L'ensemble de ce processus, grâce à un travail de croisement des données en réponses aux critères préalablement définis, permettra de hiérarchiser les 236 organismes nuisibles réglementés au niveau français et européen, objets de ce travail.

Cette démarche globale vise à la mise au point d'un outil d'aide à la décision innovant BiORRS (Biological Organisms Retrieval data and Ranking System) qui se veut objectif, générique, fondé sur des bases scientifiques solides, non figé dans le temps et adaptable pour répondre à des questions de nature diverse sur la gestion et l'impact des organismes nuisibles réglementés dans le contexte de mondialisation des échanges commerciaux des végétaux.

**EMBA : un réseau pour structurer la recherche sur le biocontrôle**

A. N. Volkoff

Le réseau EMBA (*Ecological Management of Bioagressors in Agroecosystems*), affilié au département Santé des Plantes et Environnement de l'INRA, a été lancé en octobre 2014. Il regroupe une 60aine de chercheurs et vise à structurer la recherche autour du biocontrôle des agresseurs des plantes cultivées. L'objectif du réseau est d'augmenter les interactions entre chercheurs pour ouvrir les réflexions sur les grands enjeux liés à la thématique, les verrous scientifiques à lever et les nouveaux concepts et méthodes en matière de stratégie de protection des plantes à développer. Il vise à coordonner des recherches pour à terme développer des solutions innovantes de protection des cultures en fédérant des chercheurs issus de champs disciplinaires différents mais travaillant dans le domaine du biocontrôle, qu'il s'agisse du développement de biopesticides (micro-organismes), d'agents de lutte biologique (macro organismes), de médiateurs chimiques, ou d'extraits naturels favorisant le biocontrôle. L'objectif est également de favoriser le développement de ces produits de biocontrôle en s'appuyant, entre autres, sur des partenariats de recherche public / privé.

**www.phenoplant.org : un outil web pour l'exploitation de gros jeux d'images de fluorescence de chlorophylle.**

C. Rousseau[1], G. Hunault[2], S. Gaillard[3], J. Bourbeillon[4], G. Montiel[5], Ph. Simier[5], C. Campion[6], M.A. Jacques[1,3], E. Belin[1,7] et T. Boureau[1,6]

*[1]PHENOTIC, SFR 4207 QUASAV, F-49045 Angers, France; [2]Université d'Angers, Laboratoire d'Hémodynamique, Interaction Fibrose et Invasivité tumorale hépatique, UPRES 3859, IFR 132, F-49045 Angers, France ; [3]Institut de Recherche en Horticulture et Semences, UMR1345, INRA, SFR 4207 QUASAV, F-49071 Beaucouzé, France ; [4]Institut de Recherche en Horticulture et Semences, UMR1345, AgroCampus-Ouest, SFR 4207 QUASAV, F-49045 Angers, France ; [5]Université de Nantes, Laboratoire de Biologie et de Pathologie Végétales EA 1157, SFR 4207 QUASAV, F-44322 Nantes, France ; [6]Institut de Recherche en Horticulture et Semences, UMR1345, Université d'Angers, SFR 4207 QUASAV, F-49045 Angers, France ; [7]Laboratoire Angevin de Recherche en Ingénierie des Systèmes (LARIS), Université d'Angers, F-49000 Angers, France*

L'analyse d'image est utilisée de manière croissante en phénotypage des plantes. Parmi les différentes techniques d'imagerie utilisable pour le phénotypage des plantes, l'imagerie de fluorescence de chlorophylle permet d'imager l'impact de stress biotiques et abiotiques sur feuille. De nombreux paramètres de fluorescence peuvent être mesurés ou calculés, mais seuls quelques-uns offrent un contraste utilisable dans une condition donnée. Dans la perspective d'un phénotypage haut débit, nous avons développé des procédures automatiques qui permettent de sélectionner les paramètres d'intérêt et d'explorer de gros jeux d'images de feuilles impactées par un stress.
Dans un premier temps, pour chaque paramètre de fluorescence de chlorophylle, une planche contact est créée afin de fournir à l'utilisateur une vue d'ensemble des images et/ou histogrammes associés. De telles planches contact permettent la comparaison de divers traitements ou l'observation de l'évolution d'un paramètre au cours du temps. Dans un second temps, des radial-plot et des box-plot sont automatiquement construits à partir de l'intensité globale de chaque paramètre de fluorescence de chlorophylle, pour identifier les paramètres présentant des différences entre traitements. Un traitement statistique est effectué de manière automatique afin d'identifier les différences significatives. Dans un troisième temps, une analyse de clustering est effectuée à partir des histogrammes associés aux images. Les images sont regroupés en fonction du statut sanitaire de la plante. Nous avons appliqué cette procédure automatique pour analyser des images de fluorescence de chlorophylles d'*Arabidopsis thaliana* ecotypes Col-0 et Ler inoculées avec la plante parasite *Phelipanche ramosa*.
A l'aide de cette procédure nous avons identifié huit paramètres de fluorescence de chlorophylle qui permettent de discriminer entre les deux écotypes d'*A. thaliana*. Nous avons de même identifié cinq paramètres impactés par l'inoculation d'*A. thaliana* par *P. ramosa*. Nous avons implémenté cette procédure à l'adresse http://www.phenoplant.org afin de permettre à la communauté scientifique un accès libre. Les scripts d'analyse sont développés sous R et disponibles pour téléchargement (open access sous licence CECILL).

**Influence du cultivar et du stimulateur de défense des plantes dans la résistance induite vis-à-vis de *Mycosphaerella graminicola*.**

M. Ors[1], B. Randoux[1], S. Selim[2], A. Siah[3], K. Sahmer[4], G. Couleaud[5], C. Maumene[5], P. Reignault[1] et P. Halama[3].

*[1]Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le vivant (UCEIV), GIS PhyNoPi, Université du Littoral Côte d'Opale, B.P. 699, F-62228, Calais Cedex, France ; [2]Institut Polytechnique Lasalle-Beauvais, 19 rue Pierre Waguet, BP 30313, F-60026 Beauvais Cedex, France ; [3]Laboratoire Biotechnologie et Gestion des Agents Pathogènes en agriculture, GIS PhyNoPi, Institut Supérieur d'Agriculture, 48 Boulevard Vauban, F-59046 Lille cedex, France ; [4]Groupe ISA, Equipe Sols et Environnement, Laboratoire Génie Civil et géoEnvironnement (LGCgE) Lille Nord de France (EA 4515), 48 Boulevard Vauban, 59046 Lille Cedex, France ; [5]Arvalis-Institut du Végétal, Station expérimentale de Boigneville, F-91720 Boigneville, France.*

L'utilisation de stimulateurs de défense des plantes (SDP) est étudiée ici comme une alternative possible aux traitements fongicides conventionnels pour contrôler *Mycosphaerella graminicola* (anamorphe : *Zymoseptoria tritici*), l'agent responsable de la septoriose du blé (*Triticum aestivum* L.). Deux produits possédant une activité SDP, nommés FSOV2 et FSOV10, qui contiennent respectivement un phosphite et un polysaccharide de paroi, ont ainsi été testés en conditions semi-contrôlées. Une protection partielle du blé est obtenue lorsqu'ils sont utilisés de façon préventive chez trois cultivars, Alixan, Premio et Altigo, caractérisés au champ par des niveaux de résistances différents à la septoriose. L'efficacité de FSOV2 est globalement plus faible que celle de FSOV10 ; la protection induite est donc dépendante de la nature du produit appliqué. De plus, une réduction des symptômes est obtenue uniquement chez Alixan traité avec FSOV2, chez Premio traité avec FSOV10 et chez Altigo traité avec FSOV2 et FSOV10, montrant ainsi que la protection induite par un SDP est également dépendante du cultivar. Des travaux complémentaires ont révélé que la protection obtenue n'est pas liée à un effet direct sur la germination des spores du champignon, mais à l'induction de mécanismes de défense chez le blé. L'expression mesurée par RTqPCR de neuf gènes (*pr1, chit2, gluc, pal, chs, lox, aos, pox2* et *oxo*, codant respectivement pour la pr1, chitinase2, glucanase, phénylalanine ammonia lyase, chalcone synthase, lipoxygénase, allène oxyde synthase, peroxydase2 et oxalate oxydase) et le dosage des activités peroxydase et phénylalanine ammonia lyase avant l'infection par *M. graminicola* montrent que les cultivars répondent aux traitements par l'induction de différentes voies de défense. Alors que Alixan et Altigo répondent aux traitements par l'induction de la voie des phénylpropanoïdes, la réponse de Premio implique la voie des octadécanoïdes. Par ailleurs, les mécanismes de défense sont également induits différemment pour chaque cultivar selon le SDP considéré. Ces résultats obtenus à l'échelle de la serre suggèrent très fortement que l'efficacité au champ des SDP contre la septoriose du blé serait conditionnée de façon déterminante par le choix du couple SDP-cultivar.

**Vers de nouvelles variétés de vigne résistantes aux maladies pour une viticulture durable.**

D. Merdinoglu[1,2], C. Schneider[1,2], S. Wiedemann-Merdinoglu[1,2], V. Dumas[1,2], E. Prado[1,2], P. Mestre[1,2], S. Blanc[1,2], P. Blasi[1,2], E. Peressotti[1,2], C. Onimus[1,2], M.C. Lafarge[1,2], M.A. Dorne[1,2], M.P. Piron[1,2], L. Ley[3], D. Forget[4], G. Barbeau[5] et L. Audeguin[6]

*[1]INRA, UMR 1131, SVQV, 68021 Colmar Cedex, France; [2]Université de Strasbourg, UMR 1131, SVQV, 68021 Colmar Cedex, France; [3]INRA, UE 0871, SEAV, 68021 Colmar Cedex, France ; [4]INRA, UE Viticole Bordeaux, 33883 Villenave-d'Ornon Cedex, France ; [5]INRA, Unité Vigne et Vin, 49 071 Beaucouzé Cedex, France ; [6]IFV, Pôle National Matériel Végétal, 30240 Le Grau du Roi, France*

La protection contre les maladies des parties aériennes les plus menaçantes pour le vignoble que sont le mildiou et l'oïdium est actuellement essentiellement réalisée par des moyens de lutte chimique. De ce fait, la viticulture se situe au second rang sur le marché des produits phytosanitaires après les céréales. Une contrainte majeure pèse donc sur la viticulture de demain : l'obligation de réduire l'usage des pesticides afin de limiter leur impact sur la qualité des vins, l'environnement, la santé humaine, le revenu des entreprises viticoles et son image de marque. Alors que les variétés traditionnelles de vigne cultivée (*Vitis vinifera*) sont sensibles au mildiou et à l'oïdium, de nombreuses sources naturelles présentant une résistance partielle ou totale au mildiou et à l'oïdium ont été décrites dans plusieurs espèces de *Vitis*, d'origine américaine ou asiatique, apparentées à la vigne cultivée, parmi lesquelles *Vitis riparia*, *Vitis rupestris*, *Vitis amurensis* ou *Muscadinia rotundifolia*. Ces espèces sont inter-fertiles avec *V. vinifera* et constituent ainsi un réservoir de ressources génétiques considérable pour améliorer la vigne cultivée pour sa résistance aux bio-agresseurs. Plusieurs de ces sources de résistance ont été analysées pour leur déterminisme génétique, ce qui a permis de mettre en évidence une gamme de facteurs de résistance et de développer des marqueurs moléculaires associés permettant leur suivi dans les descendances (Merdinoglu et al 2003, Marguerit et al 2009, Blasi et al 2011, Blanc et al 2012). Plusieurs de ces facteurs de résistance ont été introgressés dans un fonds génétique cultivé. Ces facteurs sont ainsi disponibles sous la forme de géniteurs combinant résistance et caractères culturaux positifs. Même si un seul exemple de contournement a été observé à ce jour (Peressotti et al 2010), des croisements permettant de pyramider plusieurs facteurs de résistance pour une même maladie ont été réalisés afin de limiter les risques de contournements. Un schéma de sélection accéléré d'une durée de 15 ans, au lieu de 25 initialement, a été mis au point, expérimenté et validé dans le cadre du projet ResDur (Merdinoglu et al 2009, Schneider et al 2014). Une fois les géniteurs créés et choisis, ce schéma se décompose en trois étapes, dont les deux dernières se déroulent au vignoble : sélection précoce (années 1 à 3) ; sélection intermédiaire (années 4 à 9) ; sélection finale (années 10 à 15). A ce jour, cette stratégie est opérationnelle et a permis de produire des variétés en cours d'inscription.

**Présentation Posters**

**Session 1**

**Assessment of a generic RT-PCR methods for the detection of *Tospovirus***

A. Leguay et P. Gentit

*Anses, Laboratoire de la Santé des Végétaux, Unité Bactériologie Virologie OGM, 7 rue Jean Dixméras, 49044 Angers Cedex.*

The Tospoviruses are considered as the most widespread and economically important plant viruses. Tospovirus induce many symptoms among a wide range of hosts. They are transmitted and spread in fields by thrips (Thysanoptera : Thripidae). These viruses have quasi-spherical enveloped particles 70-110 nm in diameter.
In order to control any emerging threat associated to this group of viruses, the LSV-ANSES must have access to a generic methods for their detection. Twenty samples were used during this study: 10 target and 10 non-target samples. The 9 following infected samples were purchased as freeze-dried material at the Leibniz institute DSMZ : ANSV, CaCV, CSNV, GRSV, INSV, IYSV, TCSV, TFYRV and WSMoV. The TSWV isolate was obtained from our collection (Plant Health Laboratory-Angers, France). This isolate was confirmed by sequencing. The non target samples were represented by 7 healthy leaf samples belonging to 7 different species (3 *Allium*, 1 *Chrysanthemum*, 1 *Cineraria*, 1 *Capsicum*, 1 *Solanum lycopersicum*) and 3 tomato samples infected by different viruses in single or mixed infection (TiCV/TOCV/TYLCV, PepMV, ToTV).
Total RNA was extracted from all twenty samples using RNeasy Plant Minikit (Qiagen) and following the protocol provided by the manufacturer. RT-PCR tests were carried out using three different sets of primer pair: gM140 / gM 870c (Chen et al., 2012), Primer 1 / Primer 2 (Dewey et al., 1996), CITospo-F / CITospo-R (personal communication, Olivier T., 2013). All tests were performed with the One-Step RT-PCR with Platinum® Taq kit (Invitrogen).
The performance criteria were evaluated following the recommendation of the ANSES guide LSV/guide 01 V2b. Within the performance criteria of the three RT-PCR methods tested, the one developed by Chen et al. (2012) showed better performance than the others. It was able to detect all ten Tospoviruses samples tested and did not cross react with RNA from non-target viruses or healthy host plant. From now, this method is used as a routine test among a large set of generic detection methods used for diagnosis at the Plant health laboratory (LSV-ANSES). These tests are used after studying the symptoms and perform an electron microcopy observation.

**Références bibliographiques :**
Chen et al. 2012. Plant Pathol. 61, 183-94. – Dewey et al. 1996. J. Virol. Meth. 56, 19-26.

**Assessment of a generic RT-PCR methods for the detection of *Potyvirus***

R. Boutin, M. Visage, A. Leguay et P. Gentit

*Anses, Laboratoire de la Santé des Végétaux, Unité Bactériologie Virologie OGM, 7 rue Jean Dixméras, 49044 Angers Cedex.*

Potyvirus is considered as one of the most important group of viruses (18% of all known viruses) causing severe economic damage to various crops. They are transmitted by aphids and virions are long flexuous particles 650 to 900 nm long.
In order to control any emerging threat associated to this group of viruses, the LSV-ANSES must have access to a generic methods for their detection. In a first stage, we have evaluated 8 different methods (Gibbs et al., 1997; Chen et al., 2001; Hsu et al., 2005; Ha et al. 2008; Zheng et al., 2010; Desbiez pers. com) with a set of 14 samples (8 targets and 5 non targets). Regarding these first results, 2 methods were further evaluated (Ha et al, 2008; Zheng et al., 2010). Thirty one samples were used during this second study: 18 targets and 13 non-targets. The 13 following infected samples were purchased as freeze-dried material at the Leibniz institute DSMZ: BCMV, BtMV, CeMV, ClYVV, LMV, LYSV, OYDV, PRSV, PSbMV, PVA, TEV, TVMV, ZYMV. The other following target samples were obtained from our collection (Plant Health Laboratory-Angers, France). They were confirmed by sequencing : PPV, WMV,TuMV,PVY, SqVYV. The non target samples were represented by 3 healthy leaf samples (*Lactuca, Cucumis, Solanum*) and 10 samples infected by different viruses in single or mixed infection (WSMV, PMTV, CVYV, TSWV, ToCV, PepMV, EMDV, TRSV, ToMV, ToTV).
Total RNA was extracted using RNeasy Plant Minikit (Qiagen). RT-PCR tests were carried out using two different sets of primer pair: Nib2F / Nib3R (Zheng et al., 2010), CIFor / CIRev (Ha et al., 2008). All tests were performed with the One-Step RT-PCR with Platinum® Taq kit (Invitrogen).
The performance criteria were evaluated following the ANSES guide LSV/guide 01 V2b. The one developed by Ha et al. (2008) showed better performance than the other. It was able to detect all 18 Potyviruses samples tested and did not cross react with RNA from non-target viruses or healthy host plant. From now, this method is used as a routine test. These tests are used after studying the symptoms and perform an electron microcopy observation.

**Références bibliographiques :**
Ha et al. (2008). Arch. Virol. 153: 25-36. – Zheng et al. (2008). PLoS ONE : e1586.

**Evaluation of a method detecting yellows diseases of *Cucurbitaceae*: *Cucumber vein yellowing virus* (CVYV), *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (CYSDV)**

P. Cousseau et P. Gentit,

*Anses, Laboratory of Plant Health, Unité Bactériologie Virologie OGM. 7 rue Jean Dixméras, 49044 Angers Cedex*

*Cucumber vein yellowing virus* (CVYV) is an *Ipomovirus* and *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (CYSDV) is a *Crinivirus*.
These two viruses affect cucurbits and cause yellowing of leaves. Transmission is by contaminated equipment or whitefly, *Bemisia tabaci*.
CVYV and CYSDV are viruses that can cause losses on cucurbit crops. These two viruses are not established in France. To prevent the introduction and spread of these viruses on French territory, the order of 8 July 2002 provides for the mandatory fight across the country.
For this, it is necessary to have a reliable and efficient method of detection. The assessment then focuses on the method of real-time RT-PCR multiplex detection proposed by Gil-Salas et al. (2007). This method allows the simultaneous detection of both viruses in multiplex. At this method, Laboratory of Plant Health couple to an internal control plant, cytochrome oxidase (Papayiannis et al, 2011). The assessment carry out of 20 samples tested triplex: target, non-target and co-infected samples.
The performance criteria, sensitivity, specificity, accuracy and repeatability of the method are evaluated according to the recommendations of the "Methodological Guide for the characterization of performance criteria of qualitative analysis methods for validation" version 2b November 2012. For all criteria evaluated, performances of RT-PCR triplex are 100% for CYSDV and CVYV.
This evaluation show that the RT-PCR real time triplex is a sensitive, specific, robust and capable of detecting both the two viruses and internal control plant.
Since, the multiplex method proposed by Gil-Salas et al. (2007) is used routinely in the Laboratory of Plant Health.

**Références bibliographiques :**
Gil-Salas et al. 2007. J. Virol. Meth. 146, 45–51. – Papayiannis et al., 2011. J. Virol. Meth. 176, 53-9.

**Simplified MLSA schemes for species identification of plant-pathogenic bacteria**

P. Portier, G. Taghouti, M. Briand, M. Lecerf, M. Jacquel, A. Lathus, C. Dutrieux et M. Fischer-Le Saux.

Reliable identification of biological material is a crucial issue in plant pathology as misidentification can lead to inadequate pest management or lead to severe economic losses when regulated pests are involved.
Meanwhile, taxonomy of bacteria evolves constantly and rapidly, especially since the rise of molecular methods. If DNA-DNA hybridizations and ANI (average nucleotide identity) are the reference methods for species delineation, MLSA (Multi Locus Sequence Analysis) is now widely used to assess diversity, phylogenies and to identify bacterial strains. MLSA can provide data useful even in a context of evolving taxonomy, providing a steady point associated to strains and can be used as a method for relatively fast and accurate identification of bacterial species. However, MLSA is usually based on five to six genes analysis, which prevents its use for routine applications.
Here we propose simplified MLSA schemes, based on two housekeeping genes, for major genera of plant-pathogenic bacteria. The use of two genes limits the risk of misidentification due to interspecies homologous recombination. Up to now we set up such schemes for *Acidovorax*, *Burkholderia*, *Clavibacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Xanthomonas*, and schemes for seven other genera are being built. These schemes were set up, tested and validated using CIRM-CFBP (French Collection for Plant-associated Bacteria) resources. They proved to be accurate enough, when associated to a reliable database, to identify the species of the tested strains. For instance, the analysis of the partial sequences of *mutS* and *leuS* genes, have allowed us to reclassify 350 strains of *Ralstonia solanacearum* held at CIRM-CFBP according to the revised classification published by Safni et al. in 2014.
These data are displayed on the on-line catalog of CIRM-CFBP as a label: « CFBP recommended » and feed the PhyloSearch's database. PhyloSearch is a web-based tool developed by CIRM-CFBP to help bacterial species identification based on phylogenetic analysis.

**Références bibliographiques :**
Safni et al., 2014, IJSEM 64 Pt9 : 3087-3103
CIRM-CFBP : http://www6.inra.fr/cirm_eng/CFBP-Plant-Associated-Bacteria
On-line catalog : http://catalogue-cfbp.inra.fr/recherche_e.php
PhyloSearch:http://www6.inra.fr/cirm_eng/CFBP-Plant-Associated-Bacteria/PhyloSearch

**Caractérisation de souches responsables de bactérioses sur Kiwi et évaluations intra et inter-laboratoires de méthodes d'analyses moléculaires pour leur détection.**

F. Poliakoff[1], A. Cunty[1,2,3,4], C. Audusseau[1], S. Paillard[1], C. Rivoal[1], S. Cesbron[2,3,4], M.A. Jacques[2,3,4] et C. Manceau[1]

*[1]Laboratoire de la santé des végétaux, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail– Anses, 7 rue Jean Dixméras, 49044 Angers, France ; [2]INRA, UMR1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé, France ; [3]Agrocampus Ouest, UMR 1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé, France ; [4]Université d'Angers, UMR1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences, SFR 4207 QUASAV, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé, France*

Suite à la détection de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (*Psa*), l'agent responsable du chancre bactérien du kiwi, en France en 2010, un plan national de surveillance a été mis en œuvre par les services officiels et a permis d'isoler plus de 300 souches bactériennes à partir d'échantillons symptomatiques d'*Actinidia* spp.. Leur caractérisation à l'aide de tests biochimiques, génétiques et de pouvoir pathogène, ainsi que l'étude phylogénétique basée sur l'analyse de quatre gènes de ménage (gapA, gltA, gyrB et rpoD) par Multilocus Sequence Analysis (MLSA) ont montré la présence en France de souches de *Psa* biovar 3 et de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidifoliorum* (*Psaf*) (Cunty et al., 2014). Les souches de *Psa* biovar 3, très agressives, génèrent des taches foliaires, mais aussi des chancres sur bois qui peuvent parfois conduire à la mort de la vigne. Ces souches sont génétiquement très similaires de celles isolées lors des récentes épidémies apparues en Asie en 1992, en Europe en 2008 et en Océanie et Amérique du sud en 2010. Les souches de *Psaf*, peu agressives, ne provoquent que des taches foliaires et ne sont pas vasculaires. *Psaf* a été isolée en Océanie et présente une plus grande diversité génétique que *Psa* biovar 3 (Cunty et al., 2014).
Depuis l'épidémie de 2008 en Europe, plusieurs méthodes de détection et d'identification moléculaires ont été publiées permettant de distinguer ou non les pathovars de *Pseudomonas syringae* d'interêt pour la production de kiwi, en ciblant différents marqueurs. Ces outils ont fait l'objet d'évaluations intra-laboratoire et inter-laboratoires au niveau européen dans le cadre d'un projet EUPHRESCO sur les critères de performance suivants : sensibilité, spécificité, exactitude, répétabilité, reproductibilité et limite de détection. Une PCR en point final et une PCR en temps réel se sont révélées les plus performantes et ont été sélectionnées pour réaliser les tests de détection sur le matériel végétal importé et de propagation dans le cadre de la surveillance du territoire français.

**Références bibliographiques :**
Cunty et al. (2014). Plant Pathol., nov 2014.

**Développement et validation d'une méthode de surveillance des communautés fongiques à dissémination aérienne dans le cadre de des maladies forestières invasives.**

C. L'Huillier[1], C. Fourrier[1], C. Husson[2], I. Cerf-Wendling[1], R. Ioos[1] et J. Aguayo[1]

*[1]Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, Malzeville (France). Laboratoire de la Santé des Végétaux, unité de mycologie ; [2]INRA, Champenoux (France). UMR 1136 Interactions Arbres/Micro-organismes.*

Le développement des techniques de séquençage à haut débit ces dernières années, a rendu possible l'étude approfondie de la diversité des champignons dans leur milieu naturel. Face aux changements associés à la mondialisation et la modification du climat, ces outils possèdent un potentiel important pour la surveillance des maladies émergentes. Celles engendrées par les champignons sont à l'origine de la dégradation de certains milieux forestiers. Nombre de ces champignons sont efficacement dispersés par le vent et peuvent coloniser très rapidement de nouveaux environnements. Il est donc indispensable de disposer d'un moyen de détection précoce de ces agents pathogènes afin de pouvoir mettre en place les mesures nécessaires à leur éradication dès leur introduction. Les nouvelles techniques de séquençage haut débit associées à la capture des spores anémophiles, ont l'avantage de constituer un outil permettant l'identification des champignons disséminés par l'air de manière aspécifique puisque la sporée entière est captée et prise en compte pour l'analyse. La composante aspécifique est un atout majeur pour un outil de surveillance phytosanitaire. Déjà utilisé pour l'étude des communautés de champignons du sol, il nécessite toutefois un travail préalable d'optimisation de toutes les étapes du processus analytique (constitution du piège à spores, extraction de l'ADN et optimisation du séquençage à haut débit) et la réalisation de tests en milieu naturel. Dans notre étude, nous avons testé et évalué une vingtaine de protocoles différents en faisant varier les types de pièges à spores utilisés ainsi que les méthodes de biologie moléculaire employées pour la préparation des échantillons à séquencer. Le séquençage haut débit de l'ADN a été effectué par la technologie Illumina MiSeq en ciblant les régions ITS1 et ITS2 de l'Internal Transcribed Spacer. Ces outils de détection exhaustive de champignons à dissémination aérienne peuvent devenir un moyen de surveillance épidémiologique phytosanitaire très précieux et simple à mettre en place.

**Session 2**

**Evaluation de la résistance de la famille des *Vitaceae* à des champignons impliqués dans la maladie du bois.**

X. Guan[1,3], S. Essakhi[1], H. Laloue[1], P. Nick[2], J. Chong[1] et C. Bertsch[1]

*[1]Laboratoire Vigne Biotechnologies et Environnement EA-3991, Université de Haute-Alsace, 33 rue de Herrlisheim, 68000 Colmar, France ; [2]Botanical Institute, Molecular Cell Biology, Karlsruhe Institute of Technology, Kaiserstraße 2, 76128 Karlsruhe, Germany ; [3]College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Tianshenglu 2, 400716 Chongqing, China*

Les maladies du bois sont une des préoccupations majeures du monde viticole en France et dans l'ensemble du vignoble mondial. Il s'agit de maladies de dépérissement impliquant différents champignons. Ces maladies s'expriment au niveau du bois par la formation de nécroses sectorielles et/ou centrales et au niveau foliaire par des décolorations caractéristiques et des dessèchements qui peuvent être foudroyants. Au contraire des nécroses dans le bois, l'expression des symptômes des maladies du bois au niveau des feuilles et des baies ne semble pas reliée à la présence de mycélium des champignons dans le rameau. L'étiologie de la maladie n'est pas totalement comprise. De plus, aucun moyen de luttes efficaces n'est disponible aux mondes viticoles.
En utilisant un test d'infection artificielle au niveau du bois, nous proposons une étude pour évaluer les ressources génétiques de la famille des *Vitaceae* vis-à vis de certains champignons impliqués dans les maladies du bois. Nos résultats montrent une différence de sensibilité dans la famille des *Vitaceae*. *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*, l'ancêtre de la vigne, semble être un candidat intéressant comme ressources génétiques de résistance. Afin de comprendre cette différence de sensibilité une étude de l'induction des défenses après l'infection a été entreprise sur différents cépages et accessions de *V. vinifera* ssp. *sylvestris* de sensibilités différentes. L'ensemble des travaux effectués sur le sujet sera exposé. Nos données seront également comparées aux sensibilités observées par l'expression des symptômes foliaires dans le vignoble.

**Effets des composés extracellulaires des *Botrysphaeriaceae* sur les événements de signalisation précoces**

E. Stempien, M. Bénard-Gellon, H. Laloue, S. Farine, F. Mazet-Kieffer, C. Bertsch et J. Chong

*Université de Haute-Alsace, Laboratoire Vigne Biotechnologie et Environnement, Colmar*

Les maladies du bois de la vigne sont dévastatrices pour la pérennité du patrimoine viticole. On distingue trois principales maladies du bois : l'esca, le *Botryosphaeria* dieback et l'eutypiose. Ces maladies, qui impliquent des complexes de champignons, s'attaquent aux organes de la vigne provoquant à plus ou moins long terme la mort du cep [1]. Étant donné que les champignons impliqués dans les maladies du bois ont seulement été isolés dans le bois mais jamais partir de feuilles symptomatiques, il a été émis l'hypothèse que les symptômes visibles sur les feuilles et les baies résultent de la migration de toxines produites par des champignons depuis le bois. De récentes études de toxicité des composés extracellulaires totaux ainsi que des protéines produits par les deux principaux champignons associés au *Botryosphaeria* dieback montrent que ceux-ci induisent des nécroses ainsi que l'expression de gènes de défenses [2,3].
La résistance des plantes aux agents pathogènes dépend de la capacité à mettre en place rapidement et efficacement les événements de signalisation précoces des réactions de défense. Dans ce contexte, nous nous sommes donc intéressés à la comparaison des événements de signalisation précoces induits dans des cellules de vigne par les composés et protéines extracellulaires des *Botryosphaeriaceae*. Pour ce faire nous avons utilisé un modèle simplifié, des suspensions cellulaires de *Vitis vinifera* cv Gewürztraminer, pour étudier les flux d'ions (à travers l'alcalinisation du milieu extracellulaire) qui conduisent à l'expression des gènes de défenses ainsi qu'à la mort cellulaire programmée. L'ajout des composés ou des protéines extracellulaires induit une alcalinisation rapide du milieu de culture des cellules de vigne, de différente intensité en fonction du champignon mais avec une tendance similaire entre les deux types de composés. Ceci indique que les cellules de vigne sont capables de percevoir les composés totaux et les protéines sécrétées des champignons. Cependant, nos résultats montrent que ceux-ci ne déclenchent ni l'expression des gènes de défense ni la mort cellulaire. Une inhibition des réponses de défense de la plante par des effecteurs de nature protéique pourrait expliquer la virulence des champignons impliqués dans le *Botryosphaeria* dieback.

**Références bibliographiques :**
[1] Bertsch et al. (2013). Plant Pathol 62:243-265. [2] Bénard-Gellon et al. (2014). Protoplasma 251:1417-1426 [3] Bénard-Gellon et al. (2015). Protoplasma 252:679-687

**Root colonization petterns of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-vanillae* in susceptible and resistant genotypes of vanilla.**

S. Koyyappurath[1], G. Conéjéro[2], F. Gatineau[2], F. Montes-Lapeyre[2], K. Jade[1], P. Besse[3] et M. Grisoni[1]

*[1]CIRAD, UMR PVBMT, 7 Chemin IRAT, 97410 Saint Pierre, Reunion Island ; [2]Histology and Plant Cell Imaging Platform, UMR AGAP-UMR BPMP CIRAD, 34398 Montpellier, France ; [3]Université de La Réunion, UMR PVBMT, 15 Avenue René Cassin, BP7151, 97715 Saint Denis, Reunion Island.*

The stem and root rot disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae* (*Forv*) is a major problem in many countries growing *Vanilla planifolia*. To date, sources of resistance to the disease have been reported in *V. planifolia* relatives. However, little data describe the histopathology of *Forv* in vanilla roots. In the current study, the root colonization patterns of the *Forv* pathogenic isolate Fo072 on susceptible and resistant genotypes was monitored using multiphoton and wide field microscopy from 2 to 9 days post inoculation (dpi). The penetration of hyphae directly through the epidermis started as early as 2 dpi in the susceptible genotype of *V. planifolia* (pla0001) in the hairy root region. Further invasion occurred specifically through the passage cells of hypodermis. At 7dpi, the intercellular colonization of cortex was extensive, and induced the plasmolysis of adjacent cells. However, no hyphae were detected in the vascular region until 9dpi. In the case of the resistant genotypes *V. pompona* (pom0018) and *V. planifolia* (pla0020), the penetration was limited to the hypodermal layer and never extended to cortical cells. The lignin deposition on hypodermal cell walls was compared between 21 resistant and susceptible vanilla genotypes. A significant correlation ($r = -0.72$, p value$<0.001$) was observed between lignin thickening onto hypodermal cells and the resistance to *Forv* assessed on *in-vitro* plants. The presence of lignified radial walls in the hypodermis was also related to the resistance. Colonization pattern and resistance mechanism identified in the present study will help in selecting novel vanilla genotypes with better resistance to root and stem rot disease.

**The genes involving polyketide synthesis of *Straptomyces rubrolavandulae* strain MJM4426, the stauroporine producer**

J.-G. Kim, S. H. Kim, H. Cho, E. S. Song, Jinho Jeong, B. M. Lee

*Genomics Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Jeonju 560-500 Korea*

*Streptomyces rubrolavendulae* strain MJM4426 has been reported to suppress rice bacterial blight caused by *Xanthomonas oryzae* pathovar *oryzae*. The activity is due to staurosporine. The genome sequence was determined by HiSeq2000 sequencer. The coverages were 194X and the size was estimated as 6.6 Mbp. The assemblies led to six scaffolds. The number of predicted proteins was 5,673. Gene cluster responsible for polyketide synthesis was identified. The comparison of the genes of *Streptomyces* species showed high homology.

**The complete genome sequence of the potato bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* SL2029, one of Korean isolates**

E. S. Song[1], J. G. Kim[1], H. Cho[1], Y.J Cho[2], B. Y. Kim[2], S. Y. Park[1], S. Kim[1] et B.M. Lee[1]

*[1]Genomics Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Jeonju 560-500 Korea, [2]ChunLab, Inc., Seoul National University, Seoul 151-742, Korea*

*Ralstonia solanacearum*, the causal agent of globally dispersed bacterial wilt disease, infects an unusually wide range of plant species, and the harm is particularly serious in economically important crops, such as tomatoes, tobacco, and potatoes. We present here the complete genome sequence of *R. solanacearum* SL2029, a race 3 strain isolated from potato. The genome is organized into two replicons: a large replicon 3,579,824 bp and a smaller 1,883,432 bp replicon, yielding a total genome size of 5,463,256 bp. The average G+C content of the SL2029 genome is 66.43% and contains 5,043 coding sequences, 50 tRNA genes, and 6 rRNA genes. Comparative genomic analysis revealed that *R. solanacearum* SL2029 is closely related to *R. solanacearum* PSI07.

**L'azote et la résistance à *Botrytis cinerea* chez *Arabodopsis thaliana***

M. C. Soulié, J. CourtiaL, D. Barbe, T. Charles, M. Fagard,

*IJPB, INRA centre de Versailles-Grignon*

Le statut nutritionnel d'une plante joue un rôle majeur lors d'une infection par un pathogène. L'apport azoté peut, en particulier, faire évoluer l'interaction soit vers la sensibilité soit vers la résistance de l'hôte suivant le pathosystème étudié (Huber et Thompson, 2007, Annual Rev. Phytopathol. 12, 139). De manière générale, les champignons biotrophes envahissent plus facilement leur hôte lorsque l'apport en nitrate est élevé alors que l'inverse a été observé lors d'une infection par un champignon nécrotrophe. Toutefois la situation est plus complexe avec le champignon nécrotrophe Botrytis cinerea. En effet, suivant la plante hôte testée, le nitrate peut être favorable ou non à l'envahissement par Botrytis, la nature de l'inoculum (mycélium ou spores) ainsi que la variabilité d'agressivité observée au sein des isolats naturels jouant aussi un rôle important (Lecompte et al 2010, Plant Pathol. 59, 891). La nutrition azotée de la plante pourrait donc avoir un impact soit au niveau des facteurs de pouvoir pathogène du champignon, soit au niveau des réactions de défense de la plante. Une première étude a été réalisée chez la plante modèle Arabidopsis thaliana avec deux souches d'agressivité différentes. Il s'avère que la limitation en azote rend les plantes plus résistantes au mycélium, cette limitation en azote n'ayant pas d'effet sur l'infection par spores (Fagard et al 2014, J. Exp. Bot. 65, 5643). Pour tenter de mieux comprendre les mécanismes mis en place lors de l'établissement de la sensibilité ou de la résistance de l'hôte en fonction de la nutrition azotée, l'analyse de l'expression de gènes d'une part du pouvoir pathogène du champignon (toxines et enzymes pectinolytiques) et d'autre part de défense de la plante a été réalisée.

**Effet du changement climatique sur la plasticité phénotypique de la réponse de *Medicago truncatula* au pathogène racinaire *Verticillium alfalfae* : approches pathologiques et moléculaires**

A.A.L. Sbeiti, M. Mazurier, C. Ben, M. Rickauer et L. Genztbittel

*Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Environnement (ECOLAB), UMR 5245 CNRS/INPT/UPS, 18 chemin de Borderouge, Pôle de Biotechnologie Végétale, 31326 Castanet Tolosan, France*

La température globale de notre planète augmentera probablement de 0.5° à 5°C d'ici à 2050. Ces changements affecteront les interactions entre les plantes et leurs pathogènes. Les plantes, et leurs pathogènes, s'adapteront aux nouvelles conditions grâce à la plasticité phénotypique et la micro-évolution. L'étude de cette plasticité aidera donc à comprendre les modifications des interactions plantes-microbes.
Le genre *Verticillium* comprend des champignons du sol provoquant des maladies de flétrissement. *Verticillium alfalfae* (*Va*) est un pathogène majeur de la luzerne cultivée (*Medicago sativa*). Il constitue un problème chronique car il persiste dans le sol, en étant inaccessible aux agents de lutte chimique.
L'analyse de la croissance et de la sporulation de 12 souches de *Va* à 20° ,25° ,28° et 30°C, a permis de retenir V31 .2 comme souche 'tempérée' et VA1 comme souche 'froide'. La plasticité phénotypique de la réponse de 7 lignées de *Medicago truncatula* (plante modèle des légumineuses) et 4 mutants de nodulation a été caractérisée à trois température (20°,25° et 28°C).
Les symptômes de maladies ont été relevés pendant un mois. La présence du champignon dans les tissus végétaux est évaluée par ré-isolement. Il existe un effet significatif de la température sur les symptômes provoqués par V31-2, sans interaction avec les génotypes (25°C est la température optimale pour l'infection). La lignée de référence A17 est résistante, et des mutants plus résistants sont identifiés. Une interaction significative génotypes/température est trouvée pour VA1. A 20°C, température optimale pour l'infection avec VA1, la lignée A17 est sensible. Le ré-isolement du champignon confirme ces résultats. Nous envisageons de quantifier la quantité de champignon dans la plante par qPCR, et d'analyser l'expression de gènes de défense au cours de l'infection.
Une étude de fitness pour ces 11 lignées a été réalisée en serre, en 'common garden'. Après infection par les deux souches à 20°, 25° et 28°C, le nombre, la masse de gousse et le poids des parties aériennes ont été mesurés après 6 mois, ainsi qu'en condition contrôle. Les résultats montrent l'impact de l'infection sur ces trois caractères, qui diminuent chez les lignées sensibles. Pour les lignées résistantes et partiellement résistantes, les traits fonctionnels ne sont pas affectés, quelle que soit la température. Les résultats de VA1 sont en cours d'analyse.
Nos résultats indiquent un effet de la température sur les stades précoces de la maladie, qui n'est pas retrouvé dans les modifications de fitness des plantes.

**Effects of phytopathogenic micro-organisms on the composition of seed microbiota**

S. Rezki[1,2,3], M.A. Jacques[1,2,3], P. Simoneau[1,2,3], S. Bonneau[1,2,3], M. Briand[1,2,3], C. Campion[1,2,3], B. Iacomi-Vasilescu[4], Y. Toualbia[1,2,3], E. Laurent[5] et M. Barret[1,2,3]

*[1]INRA, UMR1345 Institut de Recherches en Horticulture et Semences, Beaucouzé, France ; [2]Agrocampus Ouest, UMR1345 Institut de Recherches en Horticulture et Semences, Beaucouzé, France ; [3]Université d'Angers, UMR1345 Institut de Recherches en Horticulture et Semences, Beaucouzé, France ; [4]USAMV, Bucharest, Romania ; [5]FNAMS, Brain-sur-l'Authion, France*

The seed microbiota is composed of various micro-organisms that can be beneficial, neutral or detrimental to the plant host. To date, transmission of micro-organisms from plant to seed has been mainly studied for phytopathogenic bacteria and fungi. However, the effect of these phytopathogenic micro-organisms on the structure of the seed microbiota remains largely unknown. In the present work, we assessed the effect of the plant pathogenic fungus *Alternaria brassicicola* (*Ab*) and the plant pathogenic bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (*Xcc*) on the structure of the radish seed microbiota. Seed samples were harvested from plants inoculated with *Ab* and *Xcc* or from uninoculated plants. The microbial diversity associated to these different seed samples was assessed through sequencing of one bacterial marker (gyrB) and one fungal marker (ITS1). Sequences analyses revealed that the fungal richness significantly decreases in seed samples inoculated with *Ab*. In contrast, the bacterial richness remains constant in all treatments. Moreover, ß-diversity analyses highlighted that while the plant pathogenic fungus *Ab* has a significant impact on the fungal community structure, no effect is observed on the bacterial community. In addition, *Xcc* inoculation does not impact the structure of seed microbiota. Finally, different interactions were detected between fungal OTUs. In fact, some species that belonged to the genus *Alternaria* compete with *Ab*. Some of these specific taxa could potentially be involved in pathogen exclusion and may contribute to plant health.

## Vigne et *Pantoea agglomerans*

F. Mazet, S. Farine et C. Bertsch

*Laboratoire Vigne, Biotechnologies et Environnement - EA3991, 33 rue de Herrlisheim, BP 50568, 68008 Colmar Cedex*

De nombreuses bactéries interagissent avec les plantes. Heureusement peu sont actuellement capables d'induire des maladies. Dans un contexte où la présence de *Xyllela fastidiosa* a été détectée en Italie (1), il convient néanmoins d'être vigilant à ce propos, les antibiotiques, molécules capables de détruire ces microorganismes, étant interdits en culture.

Dans le cadre de nos recherches, nous avons isolé des bactéries à partir de feuilles de pieds de Gewurztraminer atteints de *Botryosphaeria* Dieback. Parmi celles-ci, nous avons identifié une entérobactérie, *Pantoea agglomerans*. Nous nous sommes alors demandé quel pouvait être l'impact de cette bactérie sur les pieds de vigne.

Dans un premier temps, nous avons voulu savoir si cette bactérie pouvait, elle aussi, être impliquée dans l'expression des symptômes du *Botryosphaeria* Dieback. Cette souche a-t-elle un effet protecteur ou potentialisateur de la maladie ? Nous l'avons donc confrontée, *in vitro*, à un des champignons responsable du *Botryosphaeria* Dieback, *Neofusicocum parvum* S116. Il s'est avéré que *Pantoea* ralentissait le développement du mycélium. Nous avons ensuite cherché à connaître la nature de cet effet : physique ou moléculaire. Nous avons ainsi montré une légère stimulation de la croissance bactérienne en présence de filtrat *fongique.* Nous devons désormais étudier l'effet du filtrat de culture de la bactérie sur le développement mycélien. Il conviendra ensuite d'isoler la/les molécules impliquées dans ces effets.

D'autres souches de *P. agglomerans* sont connues pour être phytopathogènes (2). Nous avons donc testé la bactérie que nous avons isolée, sur vitro-plants de vigne. Nous avons ainsi mis en évidence une action pathogène, *Pantoea* allant jusqu'à provoquer une défoliation. *Pantoea agglomerans* a été retrouvée dans le bois (3) et dans les feuilles de pied de vigne. Il semble bien s'agir d'une bactérie xylémique (4). De plus, nous avons pu constater que *Pantoea* est capable de passer un filtre de 0,22 µm. Ces observations laissent entendre que cette bactérie pourrait avoir une action systémique.

Nous devons donc poursuivre nos investigations afin d'être prêt à réagir en cas de pathogénicité avérée.

**Références bibliographiques :**

(1) L'EFSA délivre un avis urgent sur la bactérie végétale *Xylella fastidiosa*. Nov 2013. – (2) Nissan et al., Molecular Microbiology (2006) 61, 1118–1131. - (3) Thèse de doctorat. Emilie Bruez. Janvier 2013. – (4) Ammar et al., J. Microsc. Ultrastruct. 2 (2014) 28–33.

**Virus sequestration by a plant defense mechanism targeting a viral protein essential for polerovirus movement**

[§]C. Rodriguez-Medina[1], S. Boissinot[1], S. Chapuis[2], [#]D. Gereige[1], [†]M. Rastegar[1], M. Erdinger[1], F. Revers[3], V. Ziegler-Graff[2] et V. Brault[1]

*[1]UMR 1131 SVQV INRA-UDS, 28 rue de Herrlisheim, 68021 Colmar, France ; [2]Institut de Biologie Moléculaire des Plantes, Laboratoire propre du CNRS conventionné avec l'Université de Strasbourg, 12 rue du Général Zimmer, 67084 Strasbourg, France ; [3]INRA, Université de Bordeaux, UMR 1332 de Biologie du Fruit et Pathologie, 33882 Villenave d'Ornon, France*
*Present addresses: [§]Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Tibaitatá, Colombia ; [#]Lebanese University, Faculty of Science 3, Tripoli, Liban ; [†]Shiraz University, Plant Protection Department, Shiraz, Iran*

Poleroviruses (*Luteoviridae* family) infect economically important crops (beets, potatoes, cereals…). They are restricted to phloem tissue and strictly transmitted by aphids. Our study focuses on *Turnip yellows virus* (TuYV) movement in the plant.
TuYV encodes a protein of 74 kDa known as the readthrough protein (RT) involved in virus movement. We show that the deletion of the C-terminal part of the RT protein ($RT_{Cter}$) resulted in a TuYV mutant (TuYV-$\Delta RT_{Cter}$) affected in long-distance trafficking in a host-specific manner. In order to identify plant proteins involved in virus movement a phloem cDNA library from Arabidopsis thaliana, obtained in the laboratory, was screened by the yeast two-hybrid system. Using the $RT_{Cter}$ as a bait, the calcineurin B-like protein-interacting protein kinase-7 (AtCIPK7) was subsequently identified as an interacting factor. When a GFP:CIPK7 fusion protein was transiently co-expressed with the virus in *Nicotiana benthamiana*, the level of TuYV accumulation, but not that of TuYV-$\Delta RT_{Cter}$, increased in infiltrated leaves. Surprisingly, the elevated TuYV titer in inoculated leaves had no beneficial effect on virus long-distance movement. GFP:CIPK7 was observed in plasmodesmata suggesting that this protein, which interacts with the $RT_{Cter}$, could negatively regulate TuYV export from the cell. AtCIPK7 could be part of a sophisticated mechanism established by the plant to limit virus dispersion by targeting a domain essential for efficient virus movement. A virus devoid of this domain would not be locally affected by this specific plant defense process but would be greatly impaired in its ability to move in the plant.

**Etude structurale de l'appareil alimentaire des cochenilles *Phenacoccus aceris*, *Pulvinaria vitis* et *Parthenolecanium corni*, vectrices de virus de la vigne**

C. Reinbold, A. Alliaume, G. Hommay et E. Herrbach

*UMR 1131 INRA & Université de Strasbourg, Santé de la Vigne et Qualité du Vin, 28 rue de Herrlisheim, 68021 Colmar, France*

L'enroulement viral de la vigne est une maladie mondialement répandue entrainant des pertes notables dans de nombreuses régions viticoles. Elle est due à plusieurs espèces du genre *Ampelovirus* (*Grapevine leafroll-associated virus* (GLRaV)-1, -3 et -4, famille des *Closteroviridae*), souvent associées dans la vigne à des espèces du genre *Vitivirus* (*Grapevine virus A* et *B* (GVA et GVB), famille des *Betaflexiviridae*) responsables du complexe du bois strié. Ces virus sont transmis naturellement de vigne à vigne par cochenilles. Les cochenilles (ordre des Hémiptères, super-famille des *Coccoidea*) sont vectrices de ces virus de la vigne et les transmettent selon le mode semi-persistant.
Trois espèces de cochenilles, *Phenacoccus aceris* (*Pseudoccidae*), *Pulvinaria vitis* et *Parthenolecanium corni* (*Coccidae*) ont été observées en microscopie optique (MO) et en microscopie électronique à transmission (MET) de façon à reconnaitre les structures internes.
Les cochenilles, libres ou fixés sur feuilles, sont fixées chimiquement, incluses dans une résine époxy puis coupées à l'ultramicrotome. Les coupes semi fines (600 nm d'épaisseur) obtenues sont colorées à l'Azur B, puis observées en MO. Les coupes ultra fines (80 nm) sont contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb, puis observées au MET.
L'observation des coupes nous permet de décrire avec précision l'anatomie de l'appareil alimentaire antérieur et de distinguer les sites potentiels de rétention des virus : stylets, cibarium, pharynx, voire œsophage.

Projet financé par l'INRA, le CIVA, le CIVC, le BIVBn FranceAgriMer.

**Functional analysis of root-knot nematode virulence genes in rice**

M. Grossi-de-Sá[1], I. Mezzalira[1,2], M. Beneventi[1,2], M.E. Lisei de Sá[1,2], D. Amora[2], H. Baimey[3], A.S. Petitot[1], J. De Almeida-Engler[2,4], D. Mieulet[5], E. A. Freire[2], F.Grossi-de-Sá[2] et D. Fernandez[1,2]

*[1]Institut de Recherche pour le Développement - UMR 186 IRD-UM2-Cirad "Résistance des Plantes aux Bioagresseurs", 911 avenue Agropolis, 34394 Montpellier Cedex 5, France ; [2]Embrapa Recusos Geneticos e Biotecnologia- Parque Estação Biológica, Av. W5 N - 70770-917 Brasília-DF, Brazil ; [3]Université de Parakou/Ecole Nationale Supérieure des Sciences et Techniques Agronomiques de Djougou, Benin ; [4]UMR IBSV INRA/CNRS/UNS, 400, Route de Chappes BP167, 06903 Sophia Antipolis Cedex France; [5] CIRAD, UMR AGAP, The RicE FUnctional GEnomics platform, avenue Agropolis, 34398 Montpellier Cedex 05, France*

Root-knot nematodes are endo-parasites with a wide host range, encompassing mono- and dicotyledonous plant crops. *Meloidogyne incognita* is responsible for rice (*Oryza sativa*) production losses in Africa. Successful infection is likely achieved by effector proteins produced in the nematode esophageal gland cells and released in the host plant cells. The aim of this study was to assess the functional role of three esophageal gland cell proteins of *M. incognita* in rice-nematode interactions. RT-qPCR assays showed that *MSP2*, *MSP7* and *MSP18* genes are over-expressed all along the infection cycle in rice roots. Immunodetection experiments using specific antibodies showed that the nematode proteins are localized in circular granules structures within the nematode body. In tomato root galls, specific detection of *MSP2*, *MSP7* and *MSP18* genes occurred within feeding sites around the nematode head. Transgenic rice (*O. sativa Nipponbare*) plants expressing the candidate proteins or artificial micro-RNAs (amiRNAs) able to silence the cognate genes in the nematode were produced. Assessment of nematode reproduction on transgenic plants allowed the identification of rice lineages with altered susceptibility, indicating that these proteins may be involved in *M. incognita* virulence. Data obtained significantly widen our knowledge of molecular players contributing to nematode pathogenicity, and open new avenues for nematode control strategies in rice and other crops of interest.

**Molecular and histological analysis of rice (*Oryza glaberrima*) resistance to *Meloidogyne graminicola***

A.S. Petitot[1], R. Haidar[1], J. De Almeida-Engler[2] et D. Fernandez[1]

*[1]UMR 186 RPB (IRD-UM2-Cirad) 911, avenue Agropolis BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France ; [2]UMR IBSV INRA/CNRS/UNS, 400 Route de Chappes BP167 06903 Sophia Antipolis Cedex, France*

Root-knot nematodes are endo-parasites with a wide host range, encompassing mono- and dicotyledonous plant crops. *Meloidogyne graminicola* is responsible for rice (*Oryza sativa*) production losses in Asia, Latin America and Africa. All currently grown rice varieties are highly susceptible and resistance to root-knot nematode species is only found in two rice species from Africa: *Oryza glaberrima* and *O. longistaminata*. The *O. glaberrima* TOG5681 accession has a high level of resistance to *Meloidogyne* spp. and was used to develop some interspecific rice lines with improved resistance to several biotic and abiotic factors. Paralleling genetic analysis, the aim of this study was to assess the cytological and molecular mechanisms underlying nematode resistance in rice. The *M. graminicola* life cycle in susceptible (*O. sativa* Nipponbare) and resistant (*O. glaberrima* TOG5681) rice plants was investigated by microscopic observations of infected roots. A reduced number of juveniles penetrated and persisted in resistant roots by 1 and 7 days after infection (dai). The few giant cells that formed in the vascular cylinder in *O. glaberrima* TOG5681 had their development arrested by ca. 20 dai and nematodes females were not fully developed. No hypersensitive-like resistance response was evidenced in root tissues. In parallel, the molecular plant responses to *M. graminicola* were assessed by RT-qPCR analyses of candidate genes involved in defense and hormonal-related pathways. These analyses suggested a role for ethylene in rice resistance responses to *Meloidogyne*. Specific treatments with hormone inhibitors are being conducted on *O. glaberrima* TOG5681 to assess their impact on nematode reproduction. These data provided with new insights into rice resistance mechanisms towards *Meloidogyne* infection. Resistance of *O. glaberrima* TOG5681 is expressed at several levels during infection, reducing penetration, stele colonization, feeding sites maintenance and impairing further nematode development. These data offer interesting perspectives for developing control strategies towards *Meloidogyne* spp. based on rice genetic resources.

**Phenotypic variability between some isolates of *Botrytis cinerea* and *Botrytis pseudocinerea* collected in the region of Bejaia (Northern Algeria)**

A. Adjebli[1], H. Houa[1], I. Narimene[1] et K. Aissat[1]

*Laboratoire d'Ecologie Microbienne, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia, 06000 Bejaia, Algérie*

*Botrytis cinerea* is an ubiquitous pathogen which causes severe losses in many fruit, vegetable and ornamental crops. The pathogen infects leaves, stems, flowers and fruits. In the present study, eight single-spore strains of *B. cinerea* isolated from tomato greenhouses located in Bejaia regions (Northern Algeria). Isolates were molecularly characterized by nine microsatellite makers. Isolates were assigned as *B. cinerea* and B. pseudocinerea with four isolates of each species. Morphological characterization was established using two cultures media (PDA and MEA). All isolates inoculated on PDA medium were exclusively Sclerotial, in contrast all isolates were Mycelial on MEA medium. The strains of the two species were similar in aggressiveness on both host species tested (tomato leaves and apple fruits). Moreover *B. cinerea* isolates were more aggressive than *B. pseudocinerea* on lettuce leaves. Both plants (tomato leaves and lettuce leaves) were significantly more susceptible to *B. cinerea* and *B. pseudocinerea* than those of apple fruits. A significant negative correlation was established between aggressiveness and morphological type. The epidemiological consequences concerning populations of *B. cinerea* and *B. pseudocinerea* in tomato greenhouses are discussed.

**Rétention hivernale des virus de l'enroulement et du bois strié de la vigne par les cochenilles *Heliococcus bohemicus* et *Parthenolecanium corni***

G. Hommay, M. Beuve, C. Reinbold, A. Alliaume et E. Herrbach

*UMR 1131 INRA et Université de Strasbourg, Santé de la Vigne et Qualité du Vin, 28 rue de Herrlisheim, 68021 Colmar, France*

Les cochenilles sont les vecteurs naturels des virus de l'enroulement (genre *Ampelovirus*, famille des *Closteroviridae*) et du bois strié de la vigne (genre *Vitivirus*, famille*Betaflexiviridae*). A l'automne, avant la chute des feuilles, elles migrent sous l'écorce des ceps ou des baguettes pour hiberner. Après la taille des bois et l'arrachage de pieds en hiver, les cochenilles sont capables de survivre sur le matériel végétal abandonné dans le vignoble. Au printemps, ces populations sont susceptibles de migrer sur des ceps sains et de leur transmettre les virus qu'elles ont acquis sur les vignes malades. Il est donc important de vérifier si les cochenilles hibernantes hébergent encore les virus alors qu'elles ne s'alimentent pas.
L'étude a porté sur deux espèces de cochenilles utilisant des sites d'hibernation différents. La cochenille bohémienne *Heliococcus bohemicus* (*Pseudococcidae*) s'installe sous l'écorce des ceps et n'a plus accès aux vaisseaux conducteurs. La lécanine *Parthenolecanium corni* (*Coccidae*) hiberne sous l'écorce des ceps, mais aussi sous celle des baguettes ou du bois de deux ans,au contact des tissus ligneux, et certains individus sont ancrés dans le bois par leurs stylets. Les larves d'*H. bohemicus* ont été prélevées sur des ceps infectés par un ou plusieurs virus détectés préalablement par test ELISA. Les larves de *P. corni* ont été prélevées sur les bois de taille dans lesquels la présence de virus a été vérifiée conjointement par test ELISA. La présence de GLRaV-1, -2, -3 et du GVA a été recherchée par une RT-PCR multiplexe dans les larves hivernantes. Des tests d'infectivité ont été réalisés en plaçant des *H. bohemicus* hibernants à température ambiante sur des boutures saines de Pinot noir.
La proportion de lots d'*H. bohemicus* positifs pour au moins un des virus recherchés varie peu au cours de l'hiver et avoisine 70 %. Chez *P. corni*, la proportion de lots positifs pour au moins un des virus est de 87 %. Aucun plant sain n'a été infecté par les *H. bohemicus* sortis d'hibernation. Il est possible que la quantité de virus en rétention dans les cochenilles hibernantes ne soit pas suffisante pour être transmise à de nouvelles plantes ou que les virus demeurent dégradés dans l'appareil digestif, mais encore détectables par RT-PCR.

Projet financé par l'INRA, le CIVA, le CIVC, le BIVB, FranceAgriMer.

**Interactions compatibles entre *Zymoseptoria tritici* et les espèces de blé tendre et de blé dur : étude comparative**

L. Somai-Jemmali[1], B. Randoux[2], A. Siah[3], M. Magnin-Robert[2], P. Halama[3], P. Reignault[2] et W. Hamada[1]

*[1]Laboratoire de Génétique et Amélioration des Plantes, Institut National Agronomique de Tunis, 43 avenue Charles Nicolle, 1082 Tunis, Tunisie ; [2]Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant, GIS PhyNoPi, Université du Littoral Côte d'Opale, Univ. Lille-Nord de France, CS 80699, F-62228, Calais cedex, France ; [3]Equipe Biotechnologie et Gestion des Agents Pathogènes en agriculture, Laboratoire Charles Viollette, GIS PhyNoPi, Institut Supérieur d'Agriculture, Univ. Lille Nord de France, 48 Boulevard Vauban, F-59046, Lille cedex, France.*

Le blé dur, tout comme le blé tendre, est une céréale touchée par la septoriose, une maladie foliaire causée par le champignon hémibiotrophe *Zymoseptoria tritici*. Toutefois, peu d'études ont été menées sur l'interaction blé dur-*Z. tritici*. Dans cette étude, nous avons comparé deux interactions compatibles, entre d'une part une variété de blé dur (Karim) et une souche de *Z. tritici* (St-08-46) tunisiennes, et d'autre part, une variété de blé tendre (Premio) et une souche de *Z. tritici* (T01193) françaises. Des observations microscopiques du processus infectieux du champignon ont tout d'abord montré un mode de germination des spores différent chez les deux souches. Le mode de pénétration des feuilles de blé par les tubes germinatifs a également présenté des différences entre les deux souches ; les pénétrations directes au travers des parois des cellules épidermiques étant majoritaires chez la souche tunisienne. Chez les deux souches en revanche, durant la phase nécrotrophe de l'infection, le développement des symptômes et la sporulation sont associées à une forte augmentation des activités des enzymes dégradant les parois cellulaires du blé, comme les activités xylanase, glucanase et protéase. Les réactions de défense mises en place chez les deux espèces de blé ont également été abordées. Chez le blé tendre, l'expression des gènes PR2, PR3, PR9 et PAL-1 sont plus fortement induits au cours de l'infection, alors que l'expression du gène LOX-1 semble être réprimée chez les deux espèces. Les activités peroxydase, catalase, glucanase, phénylalanine-ammonia-lyase et lipoxygénase sont stimulées chez les deux espèces de blé en réponse à l'infection, avec des niveaux parfois différents chez les deux espèces de blé. Au niveau cytologique, aucune accumulation de peroxyde d'hydrogène ni de composés phénoliques n'a été détectée aux sites de pénétration du champignon. Même si des différences sont observées lors du processus infectieux du champignon entre les deux interactions compatibles considérées, les réactions de défense des deux espèces de blé semblent suivre les mêmes voies.

**Dynamics of the bacterial and fungal rhizosphere communities during the infection of *Brassica rapa* roots by the obligate protist *Plasmodiophora brassicae***

L. Lebreton[1], A.-Y. Guillerm-Erckelboudt[1], K. Gazengel[1], S. Daval[1], A. Sarniguet[1], J. Denonfoux[2], S. Ferreira[2] et C. Mougel[1]

*[1]UMR 1349, Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes, INRA - Agrocampus Ouest - Université de Rennes 1, BP35327, Le Rheu, France ; [2]GENOSCREEN, Service Recherche, Développement et Innovation en Santé Humaine et Environnement, Lille, France*.

An increasing number of studies, especially for soil-borne diseases, clearly demonstrate that Koch and Hill's fundamental postulates of "one microbe—one disease" has shown its limits. Indeed, many pathogens interact with other micro-organisms in communities that influence disease processes. Recently, the "pathobiome" concept, which represents the pathogenic agent integrated within its biotic environment, was defined. To apply this concept, the first step is to describe the biodiversity of relevant microbial communities during plant-pathogen interaction. As an experimental support, we studied the interactions in soil between *Brassica rapa* (Shanghai pak choy) roots and the obligate phytopathogenic protist, *Plasmodiophora brassicae*, the causal agent of clubroot disease. The aim of our study was to examine the biodiversity and the dynamics of the rhizosphere and root microbial communities during the colonization process of *B. rapa* by *P. brassicae*.
Plants were cultivated on a silty soil and inoculated (or not) with resting spores of *P. brassicae*. At 7, 14, 23 and 35 days after inoculation (DAI), roots were assessed for symptom development and for the number of resting spores produced. Samples from the rhizosphere soil and root compartments were also collected. DNAs were extracted using a normalized protocol. Then, an amplicon sequencing protocol was developed on the bacterial 16S rDNA and fungal 18S rDNA on MiSeq Illumina platform. Bioinformatic and statistical analysis were performed to determine richness and eveness parameters, and modification in diversity of microbial communities.
Phenotyping of plants confirmed the development of clubroot disease only for inoculated plant. Per sample, a mean of 100000 and 45000 reads corresponding to 10000 and 1600 OTUs for bacterial and fungal communities were respectively generated. The taxonomic assignment was obtained after comparison with the Silva reference databases. To describe the diversity composition, hierarchical cluster dendrograms based on Unifrac distance were generated. Significant differences between bacterial and fungal communities for each soil compartment and between healthy and diseased plants were identified by multivariate analysis of variance and pairwise comparisons. The main significant changes of bacterial and fungal communities were observed during the secondary stage of *P. brassicae* life cycle, beginning around 14 DAI. During this secondary stage, several microbial taxons like genus belonging to the *Proteobacteria* or *Blastocladiomyceta* are significantly enriched in the rhizosphere of diseased roots compared to healthy roots. Future research will connect structure and function data from the tripartite interaction: plant – pathogen and microbial communities to investigate the importance of these interactions with the soil microbial communities to modulate the pathogen fitness and the plant defense traits

**Detoxification of mycotoxins and resistance to fusarium head blight in cereals, from *Brachypodium distachyon* to bread wheat**

M. Gatti[1], Ph. Leroy[2], F. Cambon[2], C. Tassy[2], T. Langin[2] et M. Dufresne[1]

[1]*Institute of Plant Sciences Paris-Saclay (IPS2), UMR 9213/UMR1403, CNRS, INRA, Université Paris-Sud, Université d'Evry, Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Bâtiment 630, 91405 0rsay, France ;* [2]*Unité Génétique Diversité et Ecophysiologie des Céréales INRA,UMR1095, F-63039 Clermont-Ferrand, France*

Fusarium head blight (FHB) caused by fungi of the *Fusarium* genus is a widespread disease of wheat (*Triticum aestivum*) and other cereal crops. The main causal agent of FHB, *Fusarium graminearum* can produce mycotoxins mainly belonging to type B trichothecenes, such as deoxynivalenol (DON), that can negatively affect humans, animals and plants. Several QTL for resistance to FHB have been identified some of which have been correlated by the ability to conjugate DON into DON-3-O-glucose (D3G). However, in all studies performed so far, no functional analyses were conducted to directly correlate DON glucosylation and resistance in planta.
In order to develop efficient strategies of FHB resistance in wheat, there is a need for more detailed functional analyses of the relationship between detoxfication of mycotoxins and resistance to FHB.
Our team, using the model cereal species *Brachypodium distachyon*, has recently demonstrated that the Bradi5g03300 UGT is able to confer tolerance to DON following glucosylation of DON into DON 3-O-glucose and is involved in quantitative resistance to FHB. Our results have further shown that early and efficient DON glucosylation is essential to establish a good level of resistance.
In this present work, we aim at transferring the functional analyses conducted on the model species *Brachypodium distachyon* to bread wheat. In order to find wheat genes orthologous to the *B. distachyon* Bradi5g03300 gene, we have focused on a region encoding an important domain located at the carboxy-terminus of the protein which is involved in the binding of the sugar donor, named Plant Secondary Product Glycosyltransferase (PSPG) box. Using a phi-blast analysis based on the glycosyltransferase PSPG pattern, we obtained 16 putative candidates. The expression pattern of these candidate genes following fungal infection or DON application will soon be determined by qRT-PCR. In parallel, the *B. distachyon* Bradi5g03300 has been introduced through biolistic transformation in the wheat variety Apogee, susceptible to FHB. Altogether, these approaches will contribute to increase the knowledge concerning the functional relationship between DON glucosylation and FHB resistance in wheat and provide candidate genes to include in selection processes.

**FLP1 and FLP2 genes encode fasciclin I-like proteins that contribute respectively to early or late infection of plant by *Botrytis cinerea***

J. Ferria, C. Rascle, P. Smilevski, G. Fleury, C. Bruel, N. Poussereau et M. Choquer

Type I Fasciclins are secreted or membrane-anchored proteins that display cell adhesion properties by homophilic interactions in a wide-range of eukaryotic organisms. In fungi, two fasciclin-like proteins (Flp) are usually found but their biological role is poorly understood. Inactivation of the *flp1* gene in *Magnaporthe oryzae* led to significant decrease in conidiation, conidial adhesion, appressorium turgor and pathogenicity (Liu *et al*., 2009). In *Fusarium graminearum*, *AurS* gene (*flp2*) was proposed as a member of an extracellular enzyme complex responsible for the biosynthesis of Aurofusarin polyketide (Frandsen *et al*., 2011). In order to determine whether fasciclin-like proteins contribute to virulence in the plant-pathogen fungus *Botrytis cinerea*, delta-*flp1* and delta-*flp2* simple mutants were constructed and analyzed. Mutants seem unaffected in their radial growth on poor or rich media but are altered in their sporulation. Inoculation of mycelial plugs on gherkin cotyledons showed that delta-*flp1*mutant is still pathogenic but display a significant delay in the appearance of primary lesion. Flp1 protein could be implicated in fungal penetration as this defect can be overcome by wounding the plant. The most dramatic phenotype was observed for the *delta*-flp2 mutant that is completely stopped during the plant colonization process. *In vitro* qRT-PCR expression profiles were in agreement with these observations as *flp1* gene is overexpressed immediately after conidial germination and *flp2* gene is overexpressed in aged mycelium. As fungal growth was mainly affected *in planta*, we propose that Flp1 and Flp2 proteins could be early and late virulence factors in *B. cinerea*, respectively. The double mutant delta-*flp1*/delta-*flp2* has been constructed in order to study putative interactions between genes.

**Références bibliographiques :**
Liu *et al.* (2009) Journal of Zhejiang University Science B. 10: 434-44 ; Frandsen *et al.* (2011) Journal of Biological Chemistry. 286: 10419-28.

**Fluorescent labeling of the *Grapevine fanleaf virus* using cameloid nanobodies in the nematode vector *Xiphinema index***

A. Marmonier[1], C. Hemmer[1,2], L. Ackerer[1,2], S. Gersch[1], C. Gertz[1], K. Hliebieh[2], O. Lemaire[1], C. Ritzenthaler[2] et G.Demangeat[1]

*[1]Institut National de Recherche Agronomique, INRA/UDS UMR 1131, 28 rue de Herrlisheim, 68021 Colmar cedex, France ; [2]Institut de Biologie Moléculaire des Plantes, CNRS/UDS, 12 rue du Général Zimmer, 67084 Strasbourg, France.*

*Grapevine fanleaf virus* (GFLV) is a major pathogen on grapes and the causal agent of the grapevine fanleaf degeneration disease that affects vineyards worldwide. No natural resistance to this virus is known in grapevine. Under natural conditions, the virus is transmitted specifically and exclusively on grapevines by the dagger nematode *Xiphinema index*. Transmission is a two-step process: first the virus is acquired by nematodes upon feeding on roots from infected plants and specifically retained in the nematode feeding apparatus probably by a specific nematode ligand. In a second step, the virus is inoculated to healthy plants during subsequent feeding events on roots by viruliferous nematodes. The interaction between the virus and its vector is determined only by the capsid protein (CP) [1, 2]. Recently, based on structural approaches combined with reverse genetic experiments, a positively charged cavity was highlighted in the surface of the viral particle [3, 4]. However, so far, the nature of the nematode's receptor able to recognize this CP domain is unknown. For this issue a reliable and efficient technique able to localize GFLV particles in the nematode feeding apparatus need to be developed.

To visualize the viral particles in the nematode, we have developed a novel approach based on the use of Nanobodies fused with TagRFP or eGFP so-called Chromobodies. Chromobodies are a new class of fluorescent antibodies which are characterized by their extremely small size, high stability, excellent reproducibility and high affinity for their target. A collection of 23 nanobodies directed against GFLV was recently obtained from which 3 nanobodies were selected and fused to either with eGFP or TagRFP. These chromobodies have been produced and purified from *E. coli*.

A population of *X. index* nematodes have been access to GFLV infected grapevines in greenhouse and the virus presence was assessed by RT-PCR experiments. Fragments of viruliferous nematodes incubated with chromobodies resulted in virus-specific fluorescence in all the expected nematodes organs supposed to retain the virus i.e. the stylet extension, the esophagus and the bulb whereas incubation with polyclonal or monoclonal GFLV specific antibodies never provided organs-specific labelling. Virus-specific fluorescent signals were observed in the virus-retention region of about 40% of the nematode fragments examined. This specific GFLV-immunolabeling will be validated by CLEM (Correlative Light Electronic Microscopy). All together Chromobodies provide a versatile tool to investigate the biochemical properties of virus ligand within the nematode.

**Références bibliographiques :**

(1). Andret-Link, P. et al. Virology, 2004. 320: 12-22. – (2). Marmonier, A. et al. Journal of Plant Pathology, 2010. 92. 275-279. – (3). Schellenberger, P. et al. Journal of Virology, 2010. 84: 7924-7933. – (4). Schellenberger P. et al. PloS Pathogens. 2011. (e1002034).

**Nanobodies as Grapevine fanleaf virus biosensors *in vivo***

K. Hleibieh[1], P. Link[2], C. Hemmer[1,2], B. Monsion[1], L. Ackerer[1,2,3], A. Marmonier[2], O. Lemaire[2], S. Muyldermans[4], G. Demangeat[2] et C. Ritzenthaler[1]

*[1]Institut de biologie moléculaire des plantes du CNRS, Université de Strasbourg, 12 rue du Général Zimmer, 67084 Strasbourg cedex, France ; [2]Institut National de Recherche Agronomique, INRA/Université de Strasbourg UMR 1131, 28 rue de Herrlisheim, 68021 Colmar cedex, France ; [3]Institut Français de la Vigne et du Vin, Domaine de l'Espiguette 30240 Le Grau du Roi, France; [4]Laboratorium voor Cellulaire en Moleculaire Immunologie, Vrije Universiteit Brussel, Pleinlaan 2, 1050 Brussel, Belgium.*

The nepoviruses *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) and *Arabis mosaic virus* (ArMV) are the two main causal agents of grapevine fanleaf degeneration. They are specifically transmitted by the dagger nematodes *Xiphinema index* and *X. diversicaudatum*, respectively. The transmission process is mediated by the ability of the nematode to ingest virions from an infected source plant, retain them within its feeding apparatus and subsequently release them in a recipient plant. The transmission specificity is tightly related to the interaction of viral particles with specific retention sites within the vector. Nematode feeding induces the formation of specialized feeding sites near the root tip, followed by proliferation of lateral roots. Our objective is to study how these changes in plant root growth are induced and lead to the initiation of virus multiplication. Therefore an efficient biosensor to track the virus in plants and in living nematodes is necessary. In our lab, we developed a new approach using Nanobodies (Nb, peptides of 12 to 15 kDa derived from heavy chain only immunoglobulins found in camelids) targeting GFLV. Based on sequences of Complementarity Determining Regions 3 (CDR3), different Nanobodies directed against GFLV were obtained that differ in epitope recognition. Two different Nanobodies were fused to a red fluorescent protein (TagRFP) to form so called chromobodies. When stably expressed in plants, chromobodies act as biosensors of the virus in vivo allowing a spatiotemporal monitoring of the fate of a viral infection in its host. Furthermore, we developed a new experimental system to monitor the feeding process by confocal microscopy under living conditions.
We observed that *X. index* and *X. diversicaudatum* feed mainly on actively growing *Nicotiana benthamiana* roots and cause the root tip to develop specialized feeding sites followed by proliferation of lateral roots near the root tip. We were able to detect red fluorescence within the esophagus bulb upon feeding on roots from TagRFP expressing plants suggesting that fluorescence is maintained in the feeding apparatus of *X. diversicaudatum*.

***Rhizophagus irregularis* decreases the disease severity of *Mycosphaerella fijiensis*, the causal agent of Black Sigatoka, on banana plantlets grown under *in vitro* culture conditions.**

Corinne Coretta Oye Anda, H. Dupré de Boulois et S. Declerck

*Université catholique de Louvain, Earth and Life Institute, Applied Microbiology, Mycology, Croix du Sud 2, bte L7.05.06, 1348 Louvain-la-Neuve, Belgium*

Le champignon pathogène causant la cercosporiose noire, *Mycosphaerella fijiensis*, attaque presque tous les cultivars de bananes et de plantains Musa spp. Les interactions hôte-pathogène de banane et de *Mycosphaerella fijiensis* ont été étudiés afin de déterminer le rôle des champignons mycorhiziens à arbuscules (AMF) dans le pathosystème de la cercosporiose noire. Les AMF sont des associations symbiotiques établies entre certains champignons du sol et des plantes vasculaires de plus ils interviennent fondamentalement dans l'optimisation de remise en forme de la plante et la qualité du sol. Les symbioses peuvent améliorer la résilience des communautés végétales contre les agressions de l'environnement, la carence en éléments nutritifs, et la sécheresse ou la perturbation du sol. Les interactions entre les agents pathogènes de plantes et des micro-organismes bénéfiques ont été rarement comparées sur le même hôte et en conditions de culture *in vitro*.
Peu d'informations sont disponibles sur les effets positifs potentiels des AMF sur la banane par rapport à ce pathogène. Les plantules de bananiers ont été pré-mycorhizés dans un réseau de mycélium extraracinaire résultant d'une plante donneuse *Medicago truncatula*, avant le transfert dans le système autotrophe de culture in vitro suivi de l'inoculation avec la suspension conidienne.
L'objectif de cette étude était de déterminer les effets de l'AMF, *Rhizophagus irregularis*, sur *M. fijiensis* sur des plantules de bananiers cultivés dans des conditions de culture *in vitro*. Une réduction d'environ 59% des lésions de la maladie sur les feuilles a été observée sur les plantules de bananiers pré-mycorhizés par rapport à ceux non pré-mycorhizés.
Ces résultats suggèrent que l'AMF pourrait avoir un effet positif sur la banane par rapport à *M. fijiensis* et fournir une alternative aux pesticides pour la lutte intégrée contre cette maladie. Ce pathosystème, combinaison du système *in vitro* de la culture et des plantules de bananiers et *M. fijiensis* représente un outil puissant pour améliorer nos connaissances sur la dynamique des interactions plantes-champignons.

**Etude du comportement du puceron face à une plante infectée par un phytovirus (pathosystème Arabidopsis / virus TuYV / *Myzus persicae* et *Brevicoryne brassicae*)**

Q. Fouché, A. Cherqui, Q. Chesnais, A. Ameline

*Université de Picardie Jules Verne, FRE CNRS 3498 EDYSAN, Bio-Écologie des Insectes Phytophages et Entomophages (BIPE), 33 rue Saint Leu, 80000 Amiens*

Nous avons étudié en laboratoire la capacité de deux espèces de pucerons, ravageurs des Brassicacées (*Brevicoryne brassicae* et *Myzus persicae*) et vecteurs de phytovirus, à coloniser l'arabette (*Arabidopsis thaliana*) infectée par le virus de la jaunisse du navet (TuYV). Pour cela, nous avons comparé la colonisation de ces deux espèces de pucerons vis-à-vis des plantes infectées et saines : (1) attraction à distance des pucerons colonisateurs (technique d'olfactométrie), (2) capacité à accepter la plante (comportement alimentaire par la technique d'Electropénétrographie (EPG)), (3) capacité à se reproduire (suivi physiologique).
Notre hypothèse de travail a été la suivante : les virus persistants tel que le virus TuYV auraient tendance à modifier la qualité de la plante hôte pour le vecteur et à induire chez le puceron vecteur une attractivité, une activité alimentaire prolongée et une amélioration des paramètres reproductifs. Les effets de l'infection virale sur le comportement et la physiologie du puceron spécialiste des Brassicacées *B. brassicae* et du puceron généraliste *M. persicae* devraient être différents et à mettre en lien avec les modifications de la chimie de la plante
Les conséquences de ces résultats sur la stratégie de dissémination du TuYV en fonction du vecteur sont discutées.

**Session 3**

**Caractérisation des populations de *Sclerotinia sclerotiorum* en France**

C. Leyronas, M. Bardin, M. Duffaud, C. Troulet et P.C. Nicot

*INRA, UR 407, Pathologie Végétale, F-84140 Montfavet*

*Sclerotinia sclerotiorum* est un champignon ascomycète qui peut attaquer plus de 400 espèces végétales (Boland & Hall, 1994) dont certaines ont une grande importance agronomique et économique. Les attaques de *S. sclerotiorum* se traduisent par des pourritures blanches qui peuvent engendrer 100% de perte de rendement sur une culture d'intérêt. Les attaques de *S. sclerotiorum* peuvent avoir lieu à partir d'inoculum tellurique ou aérien. Le champignon produit des sclérotes sur les plantes en fin de saison. Ceux-ci peuvent se conserver dans le sol puis germer pour produire du mycélium et infecter la culture suivante. Des fructifications (apothécies) peuvent être générées par les sclérotes présents à la surface du sol. Celles-ci libèrent des ascospores qui sont disséminées par le vent.

La protection des cultures contre *S. sclerotiorum* n'est pas aisée car la nature de l'inoculum n'est pas clairement identifiée pour toutes les cultures. De plus, sa gamme d'hôtes très étendue rend difficile la mise en place de cultures non hôtes dans les rotations afin de diminuer la quantité de sclérotes dans le sol.

Le projet SCLEROLEG (financement CASDAR et GIS PICLEG) dans lequel sont impliqués l'INRA, le CTIFL, le CETIOM ainsi que des associations de producteurs (ACPEL, APEF, CEFEL, Invenio, SILEBAN, UNILET) propose de clarifier l'origine de l'inoculum et de rechercher une éventuelle spécialisation d'hôte de *S. sclerotiorum*. Pour ce faire, des échantillonnages d'air seront réalisés (pendant 2 années successives) avant l'apparition des symptômes sur des cultures de carottes, melons et endives pour collecter de l'inoculum aérien de *S. sclerotiorum*. Des échantillons de plantes malades ainsi que des sclérotes dans le sol seront également collectés. Les isolats seront génotypés à l'aide de 16 marqueurs microsatellites (Sirjusingh & Kohn, 2001). Pour chaque culture, les isolats collectés dans l'air, sur les plantes et dans le sol seront comparés sur la base d'indices standards de diversité génétique afin de déterminer la nature de l'inoculum engendrant des symptômes sur plantes. Les isolats collectés sur les différentes espèces seront comparés et la structuration génétique sera évaluée afin de déceler une éventuelle spécialisation d'hôte. L'hypothèse d'une structuration géographique des isolats sera également testée.

Une étude préliminaire sur une 40$^{aine}$ d'isolats (issus de 10 espèces hôtes) a montré que 15 des marqueurs étaient polymorphes. La diversité génique était moyenne (Hnb=0.59) mais la diversité haplotypique était élevée (R=0.90).

La caractérisation génotypique sera complétée par une caractérisation phénotypique de l'agressivité sur différentes plantes hôtes et de la sensibilité à l'agent de lutte biologique *Coniothyrium minitans*.

**Références bibliographiques :**

Boland G.J, Hall R. 1994. Canadian Journal of Plant Pathology 16: 93-108. – Sirjusingh C., Kohn L.M., 2001. *Molecular Ecology Notes 1: 267-269.*

**De la lésion au territoire : diversité et structure génétiques de *Zymoseptoria tritici* en France à différentes échelles.**

A. Siah[1], L. El-Chartouni[2], B. Tisserant[2], P. Halama[1] et P. Reignault[2]

*[1]Equipe Biotechnologie et Gestion des Agents Pathogènes en agriculture, Laboratoire Charles Violette, GIS PhyNoPi, Institut Supérieur d'Agriculture, Univ. Lille Nord de France, 48 Boulevard Vauban, F-59046 Lille cedex, France ; [2]Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant, GIS PhyNoPi, Université du Littoral Côte d'Opale, Univ. Lille-Nord de France, CS 80699, F-62228 Calais cedex, France*

La septoriose du blé causée par le champignon ascomycète *Zymoseptoria tritici* est la maladie foliaire la plus fréquente et la plus nuisible sur les cultures de blé tendre en France. La lutte contre ce parasite repose essentiellement sur l'utilisation de fongicides et de cultivars résistants, mais la durabilité de ces méthodes sur le terrain est régulièrement remise en cause par les adaptations mises en œuvre par le champignon (développement de résistances aux fongicides et contournement des gènes majeurs de résistance) et le caractère partiel des résistances au champ. Dans ce contexte, nous visons à caractériser plusieurs populations de *Z. tritici* (plus de 1400 souches monospores au total), isolées en France entre 2005 et 2014 à partir de plusieurs échelles (territoire national, Nord-Pas de Calais, parcelle, micro-parcelles de 1 $m^2$ et 30 $cm^2$, plante, feuille et lésion nécrotique). Cette caractérisation a été effectuée avec des marqueurs microsatellites et les mating types codant pour les types sexuels et est réalisée en lien avec la biologie et le fitness du champignon. Les résultats ont mis en évidence un niveau de diversité génétique global très élevé. Les valeurs de l'indice de Nei (diversité génique) et du pourcentage d'haplotypes distincts (diversité génotypique) sont élevées et relativement comparables aux échelles nationale, régionale et du champ. En revanche, elles diminuent progressivement du champ, à la plante, la feuille et la lésion. L'analyse des résultats avec des méthodes statistiques bayésiennes et non-bayésiennes a révélé une structuration significative de la population nationale en trois groupes génétiques et de la population du Nord-Pas de Calais en trois sous-groupes, tous répartis sur des zones géographiques propres. Aucune structuration n'a été observée à des échelles plus fines. La caractérisation des mating types a montré une distribution équilibrée des deux types sexuels aux échelles nationale et régionale et à l'échelle du champ, ainsi qu'une fréquente co-occurrence aux échelles de la feuille et de la lésion. Cette étude met en évidence une forte diversité génétique pour *Z. tritici* en France, due probablement à ses brassages génétiques réguliers au champ, ainsi qu'une structuration de ses populations aux échelles nationale et régionale, témoignant de sa forte capacité d'adaptation aux différentes conditions agro-climatiques locales.

**Adaptation of poplar rust to the poplar varietal landscape**

K. J. Hayden, B. Fabre, F. Halkett et P. Frey

*INRA, Université de Lorraine, UMR 1136 Interactions Arbres – Microorganismes (IAM), F–54280 Champenoux, France*

The breakdown of host resistance to plant pathogens is of critical concern in agriculture, forestry, and the management of natural systems. Evolution of the fungal poplar rust pathogen *Melampsora larici-populina* has been shown to have been dramatically influenced by the deployment of resistance genes in commercial poplar plantations, with pathogen populations swamped by virulent genotypes (Xhaard et al, 2011). The deployment and subsequent breakdown of resistance genes in poplar plantations provide an experimental system for understanding the dynamics of pathogen evolution in response to resistance breeding, which will be critical to formulating effective management strategies in the future.
We describe a combined retrospective and prospective approach, integrating population genomics, landscape epidemiology and evolution of life history traits of the poplar rust fungus. First, the records of poplar genotypes deployed across France over the last 17 years, along with genotypes of *M. larici-populina* collected across France, have been used to make overlaying maps of host resistance and pathogen virulence. We demonstrate that the virulence landscape continues to be dominated by the sweep described by Xhaard et al. (2011), with regions heavily planted with poplar resistance type R7 continuing to be dominated by the corresponding virulence type, along with virulence types that "hitch-hiked" across the landscape during the original sweep. These genotypes persist, despite a reduction in planting of R7, and a near-absence of resistance types corresponding to the hitchhikers. In addition, the beginnings of a new sweep are emerging in regions in which a recently overcome resistance type (R8) has been more widely planted. Next, we present results of experimental tests of trade-offs in pathogen aggressiveness, reproduction, and spread in response to quantitative resistance (resistance measured by degree). Using both sets of data, we forecast the ability of the pathogen to evolve resistance to the future deployment of quantitative resistance types. These forecasts will provide a framework for the future management of poplar and other forest plantations, and will also provide testable hypotheses with which to continue to improve the understanding of host-pathogen coevolution as a whole.

**Références bibliographiques :**
Xhaard et al. 2011. Molecular Ecology 20 : 2739-2755.

**Epidémio-surveillance du mildiou de la pomme de terre en France : enjeux actuels et acquis récents**

C. Chatot[1], D. Andrivon[2], D. Gaucher [3] et R. Corbière[2]

*[1]Germicopa, Kerguivarch, 29520 Chateauneuf du Faou ; [2]INRA Centre de Rennes, UMR 1349 IGEPP, 35653 Le Rheu Cedex ; [3]ARVALIS-Institut du Végétal, 91720 Boigneville*

La pomme de terre, 3ème culture vivrière mondiale, se cultive sur tous les continents. La France est le premier exportateur européen de pomme de terre de consommation et le second pour les plants de pomme de terre. Bien que la sole française emblavée en pommes de terre y soit modeste (2 % de la sole en céréales en 2014), elle concentre une part significative des intrants phytosanitaires, essentiellement contre le mildiou dû à l'oomycète *Phytophthora infestans* (Indice moyen de Fréquence de Traitements fongicides de 12). Il convient donc, dans le contexte actuel d'application du Plan Ecophyto, d'organiser au niveau national un réseau efficace de suivi des populations de ce pathogène.

Ce travail de suivi s'appuie sur le réseau de terrain opérationnel dans le cadre du BSV, qui fournit en temps réel une évaluation du risque potentiel de maladie à l'échelle régionale. En outre, en lien avec l'initiative du groupe de travail européen EuroBlight **, le suivi épidémiologique se double depuis 2013 d'une caractérisation génétique et phénotypique des populations présentes pour 1) suivre l'évolution des structures génétiques dans les populations qui sont sujettes à de profonds et rapides changements (émergences et clones invasifs) , 2) vérifier le mode de reproduction de P. infestans sur le territoire (clonal ou sexué), 3) tester le maintien de l'efficacité des matières actives utilisées et 4) évaluer l'efficacité de la résistance variétale.

La structure génotypique (génotypage) des populations de *P. infestans*, appréhendée grâce à un jeu de marqueurs microsatellites (SSR's), montre la présence dominante de deux lignées clonales (13_A2 et 6_A1) en France, comme dans d'autres pays d'Europe de l'Ouest (Grande Bretagne et Bénélux en particulier). A l'inverse, les populations d'Europe du Nord sont issues de reproduction sexuée. La fréquence élevée de la lignée 13_A2, résistante au métalaxyl, compromet l'efficacité de cette matière active, désormais très peu employée. Par contre, aucun isolat de la lignée 33_A1, décrite comme moins sensible au fluazinam, n'a été identifié en France. Il est remarquable que certains clones (en particulier 13_A2) cumulent des adaptations (virulence sur une large gamme de gènes de résistance, résistance au métalaxyl) à des pressions de sélection faibles ou inexistantes actuellement en culture. Ces résultats montrent l'intérêt de combiner évaluation génotypique et phénotypique dans le suivi des populations et ouvrent quelques pistes pour enrichir les outils d'aide à la décision utilisés contre le mildiou.

*** EuroBlight : a potato late blight network for Europe ; http://euroblight.net/*

**Importance of barley yellow dwarf diseases infecting cereals in Morocco**

I. Taoussi, L. Hilali et B. Bencharki

*Université Hassan 1er, Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire Agroalimentaire et Santé, B.P. 577, 26000 Settat - Maroc*

Barley yellow dwarf is an important viral disease. The virus has a wide host range including all of the major cereal crops and many annual and perennial weeds, pasture and range grasses. BYDV is vectored by several aphid species in a persistent circulative manner and mainly limited to the phloem tissue of an infected plant.
To determine the incidence of BYD disease, field surveys were carried out in the major cereal growing areas of Morocco during the 2011/12 and 2012/13 seasons. Plants showing characteristic BYDV symptoms like severe dwarfing, yellowing and reddening were collected. In all, 1256 samples were collected from 280 fields in the central, northern, and eastern regions of Morocco. The cereal species studied were 87 barley (*Hordeum vulgare* L.), 36 oat (*Avena sativa* L.), 82 bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and 76 durum (*T. turgidum* var. *durum* Desf.). Serological identification was performed with double antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assays (DAS-ELISA). The polyclonal antisera against BYDV-PAV and -MAV were obtained commercially from Inotech (Basel, Switzerland), while those used for cereal yellow dwarf virus CYDV-RPV were gifts by the Purdue University, USA.
Symptomatic samples collected from the most growing cereal regions, 1189 samples (94,7%) were found to be infected with at least one virus. BYDV-PAV was the most frequent (57%), followed by BYDV-MAV (14%) and CYDV-RPV (5%). While, the mixed infections with BYDV-PAV and -MAV viruses represented 24%. The study showed also the high occurrence of BYD disease in all major cropping cereals and fluctuate over the seasons.
This report suggested that BYD disease is currently of economic importance on cereal in Morocco where the study was carried and potentially important in the other regions, with BYDV-PAV being the most important

**Session 4**

**Fusariose du cyclamen : vers une gestion intégrée de la maladie**

C. Lecomte[1], V. Edel-Hermann[2], A. Langlois[3], F. Robert[1], C. Alabouvette[4] et C. Steinberg[2]

*[1]Astredhor, 44 rue d'Alésia, 75693 Paris, France ; [2]INRA Dijon, UMR 1347 Agroécologie, 21 35 Dijon, France ; [3]Arexhor Seine Manche, 22 rue de Normandie, 76640 Fauville en Caux, France ; [4]Agrene, 47 rue C. Pierrot, Dijon, France*

*Fusarium oxysporum* est un champignon tellurique ubiquiste présentant une grande diversité de souches pathogènes et non pathogènes. Les souches phytopathogènes sont groupées en *formae speciales* selon leur spécificité d'hôte. Ainsi, la *forma specialis cyclaminis* (Focy) est responsable de la fusariose vasculaire du cyclamen. C'est le pathogène le plus destructeur sur cyclamen. Le pathogène, et donc la maladie peuvent intervenir à tout moment du cycle de culture causant d'importantes les pertes. Malheureusement, la détection préventive de Focy n'est pas possible, la lutte chimique inefficace et la résistance variétale inexistante. La lutte biologique apparaît comme l'alternative à promouvoir. Afin de fournir aux producteurs un système de gestion de la maladie efficace, nous proposons de : (1) rechercher un marqueur moléculaire spécifique pour détecter précocement le pathogène, (2) sélectionner un ou plusieurs agents de lutte biologique (ALB) efficaces parmi les produits commercialisés mais sans allégation contre Focy.

Pour cela, une collection comprenant 27 souches de Focy de collections internationales, 25 isolats de *F. oxysporum* isolés de cyclamens et une centaine d'autres souches de champignons a été constituée. L'identité des isolats de *F. oxysporum* a été vérifiée en séquençant la totalité de l'espaceur interne transcrit (ITS) de l'ADN ribosomique (ADNr) et une partie du gène codant pour le facteur d'élongation 1-α (EF1-α) et en évaluant leur pathogénicité sur cyclamen. La diversité génétique de Focy a été caractérisée en combinant les séquences de l'EF1-α et de l'espaceur intergénique (IGS) de l'ADNr. Cette analyse a révélé une grande diversité, les souches étant réparties dans six groupes. Un fragment d'ADN spécifique et commun à ces groupes a été recherché par amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD). Un fragment de 1650 pb a été identifié à partir duquel des amorces ont été dessinées. Leur spécificité et sensibilité sont en cours d'évaluation.

Parallèlement, l'efficacité de contrôle de 7 ALB seuls ou en combinaison a été testée contre une souche agressive de Focy. L'essai a été réalisé en serre. Les ALB ont été incorporés au substrat, au semis puis au rempotage. Le pathogène a été apporté une semaine post rempotage. Trois ratio ALB/agent pathogène (1/1, 10/1, 100/1) ont été testés. Les premiers résultats ont permis la sélection de 3 ALB. Ces produits seront testés à nouveau dans un essai de plus de 1500 plantes en serre, qui sera dupliqué à Dijon et Rouen. Il permettra de valider le choix et la méthode d'application de l'ALB retenu.

**Action des extraits aqueux de *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae) et de *Cleome arabica* (Capparidaceae) sur quelques paramètres biologiques de criquets pèlerin.**

A. Kemassi[1,2], N. Bouziane[1], Z. Boual[1], Z. Mesbahi[1], F. Benbrahim[2], T. Gharib[2], A. Hadj Seyd[2], A. Ould El HAdj-Khelile[1] et M.D. Ould El Hadj[1]

*[1]Laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi arides Université Kasdi Merbah, Ouargla BP 511, Ouargla 30000, Algérie ; [2]Département de biologie Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de Terre, Université de Ghardaïa, BP 455, Ghardaïa 47000, Algérie*

La présente étude porte sur l'effet des extraits aqueux *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae) et de *Cleome arabica* (Capparidaceae) sur les larves L5 et sur les imagos de Criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskål 1775). L'étude réalisée laisse apparaitre la toxicité des extraits aqueux de ces deux plantes sur le Criquet pèlerin. La prise de nourriture, la digestion et la capacité de conversion digestive sont profondément affectés chez les individus traités ce qui se traduit par une perte du poids exceptionnelle. L'extrait de *Pergularia tomentosa* semble plus toxique que l'extrait de *Cleome arabica*, un pourcentage de mortalité de 100% est noté chez les larves $L_5$ et les imagos nourris par des feuilles de choux traitées par l'extrait aqueux de deux plantes testées. L'évaluation des temps létaux 50 ($TL_{50}$) montre que les larves sont plus sensibles à l'effet toxique que les imagos, et que l'extrait aqueux de *Pergularia tomentosa* semble plus toxique que l'extrait aqueux de *Cleome arabica*.

**Monitoring and field assay of *Rhodococcus erythropolis* R138, a biocontrol agent directed at blackleg and soft-rot bacteria**

J. Cigna[1,2], P. Dewaegeneire[2], E. Munier[2], Y. Raoul des Essarts[1-4], S. Vast[3], D. Dupre[2], A. Beury-Cirou[2], V. Gobert-Deveaux[2] et D. Faure[1].

*[1]CNRS- Labex SPS- Institut des Sciences du végétal, 1 avenue de la terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette, France ; [2]Semences Innovation Protection Recherche et Environnement (SIPRE), rue des champs Potez, 62217 Achicourt, France ; [3]Comité Nord Plants de Pomme de Terre (CNPPT), rue des champs Potez, 62217 Achicourt, France ; [4]FN3PT/RD3PT, Fédération Nationale des Producteurs de Plants de Pomme de terre, 43-45 Rue de Naples, Paris F-75008, France*

Every year in France, blackleg and soft-rot bacteria that belong to the *Pectobacterium* and *Dickeya* genera cause the loss of about ten thousand tons of potato seeds. The virulence of these bacteria is regulated by quorum-sensing, a cell-to-cell communication system based on the production and sensing of diffusible signals of the acyl homoserine lactone class. Currently there is no treatment against blackleg and soft-rot diseases. A quorum-quenching strategy developed in the laboratory is based on the introduction of the *Rhodococcus erythropolis* R138 strain as a biocontrol agent. This bacterium isolated from potato hydroponic culture is able to degrade the quorum-sensing signal and disturb the virulence of the pathogenic bacteria. To monitor both R138 and pathogen *Pectobacterium atrosepticum* CFBP 6276 populations, their genomes were sequenced and specific molecular markers of the strains identified. An experimental field of the SIPRE company in Achicourt (France) was used firstly to monitor the populations of R138 and Pa6276 in the rhizosphere and in potato plants. Secondly, the blackleg incidence was also evaluated. The introduction of the biocontrol strain R138 in the field in association with a biostimulation treatment allowed the growth of R138 population in the rhizosphere but a significant protection of the potato plants was not always observed. In addition, a second strategy is developed. It involves other biocontrol agents that affect the growth of the pathogens *Pectobacterium* and *Dickeya*. This new approach is currently being tested under greenhouse and field conditions.

**Nitrogen fertilization and drought affect *Magnaporthe oryzae* infection and rice resistance.**

E. Ballini[1], P. Bidzinski[3], T. N'guyen[1], H. Huang[2], C. Michel[3], T. Kroj[3] et J.B. Morel[3]

*[1]SupAgro, UMR BGPI INRA/CIRAD/SupAgro, 34398 Montpellier, France ; [2]College of Plant Protection, Yunnan Agriculture University, Kunming, Yunnan, China ; [3]INRA, UMR BGPI INRA/CIRAD/SupAgro, 34398 Montpellier, France*

Environmental changes perturbate the setting of disease resistance in many plant-pathogen interactions. We developed two experimental systems to study the effects of drought or nitrogen fertilization on disease resistance in the model interaction between rice and the blast fungus *Magnaporthe oryzae*. We show that fungal growth is affected before and after penetration in the plant but that the final penetration rate is not affected by either drought or fertilization. On the other hand, drought and fertilization affected in very different ways disease resistance. For instance, major R genes were not strongly affected by fertilization but were severly impacted by drought. Metabolomic studies revealed that glutamate and glutamine are key players in the interaction between fertilization and disease resistance. This was further confirmed by genetic and molecular evidences. Global analysis by RNASeq of the transcriptomic changes in infected plants under drought confirmed, as expected from literature, that plant immunity is severely diminished. More surprisingly, this analysis revealed that the effector complement of the fungal pathogen is strongly affected I plants under drought. Thus striking differences in the way abiotic environment affect disease resistance are observed: drought-induce susceptibility reduces immunity and alters pathogenicity functions whereas nitrogen-induced susceptibility seems to increase trophic exchanges in favor of the pathogen.

**Screening for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae***

S. Koyyappurath[1], T. Atuahiva[2], J. B. Dijoux[1], K. Jade[1], M. Dron[3], P. Besse[2] et M. Grisoni[1]

*[1]CIRAD, UMR PVBMT, CIRAD - Université de La Réunion, 7 Chemin IRAT, 97410 Saint Pierre, La Réunion ; [2]Etablissement Vanille de Tahiti, BP912, 98735 Uturoa, Polynésie française ; [3]Institute of Plant Sciences Paris-Saclay (IPS2), UMR 9213/ UMR1403, CNRS, INRA, Université Paris-Sud, Université d'Evry, Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Bâtiment 630, 91405 Orsay, France; [4] Université de La Réunion, UMR PVBMT, CIRAD - Université de La Réunion,15 Av. René Cassin, BP7151, 97715 Saint Denis, La Réunion.*

Root and stem rot disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae* (*Forv*), is the most devastative disease of vanilla around the world. The use of resistant varieties is the method of choice for controlling Fusarium diseases. However breeding programmes aimed at developing resistant genotypes require adequate challenging isolates and reliable procedures for assessing resistance.

During surveys conducted in the major vanilla growing countries, namely Madagascar, Indonesia, Reunion Island and French Polynesia, 377 single-spore *Fusarium* isolates were recovered from rotten roots and stems. Molecular characterization (EF1-$\alpha$ and IGS gene sequences) and pathogenicity assays of subsets of isolates showed that *F. oxysporum* was the only species responsible for the disease. Among the very diverse isolates studied, Fo72 and FoP12 demonstrated a high and stable pathogenicity to the two cultivated species, *Vanilla planifolia* and *V. x tahitensis.*

The root dip inoculation of *in-vitro* grown plantlets, using conidial suspension of challenging isolate, followed by incubation at 26-24°C for two weeks in growth chamber was used for assessing plant resistance. This plantlet root inoculation method (PRIM) proved to be repeatable and quantitative on the basis of AUDPC values derived from symptoms ratings during incubation. Furthermore, a strong correlation was observed between PRIM assay and field evaluation of 5 to 9 years-old vines cultivated in shade-houses under naturally infested soil. Fifteen genotypes that rated susceptible in the field had high AUDPC values (11 to 27), while the 7 highly resistant in the field had null AUDPC. A single exception was observed for a V. planifolia accession that rated susceptible in PRIM assay but showed light symptoms in the field.

The PRIM is particularly adapted for screening novel progenies germinated *in-vitro* and can be run at high throughput. It is therefore valuable for large scale breeding programmes dealing with *Forv* resistance.

**Plateforme de phénotypage pour l'étude de la résistance de la vigne au mildiou et à l'oïdium**

S. Wiedemann-Merdinoglu, V. Dumas, M.A. Dorne, M.C. Lacombe, G. Denis-Semblat, J. Misbach, E. Duchène, P. Mestre et D. Merdinoglu

La viticulture française est dans l'obligation de réduire la quantité de pesticides utilisée dans la protection dirigée contre les deux principales maladies foliaires que sont le mildiou et l'oïdium. La création de variétés de vigne résistantes à ces pathogènes est une voie d'intérêt pour répondre à cet enjeu d'avenir. Les variétés actuellement cultivées sont toutes sensibles à ces maladies alors que des résistances totales ou partielles ont été observées dans des espèces apparentées. Le genre *Vitis* constitue ainsi un réservoir de ressources génétiques considérable qui peut être exploré afin d'améliorer la vigne cultivée pour la résistance aux maladies.
Il y a 15 ans, l'INRA a lancé un programme d'innovation variétale dont l'objectif est de favoriser le développement d'une viticulture durable, économe et respectueuse de l'environnement. Ce programme s'appuie sur l'identification de sources de résistance puis sur l'étude du déterminisme génétique de ce caractère. Cette approche nécessite des méthodes de génotypage et des méthodes de phénotypage destinées à évaluer le niveau de résistance d'une plante. Les méthodes de génotypage sont communes à toutes les espèces et adaptées à l'analyse à haut débit alors que les méthodes de phénotypage sont spécifiques de l'interaction plante-pathogène et sont en général réalisées avec un faible débit.
Il a été ainsi développé une plateforme de phénotypage dédiée à l'étude de la résistance au mildiou et à l'oïdium. Cet outil permet de produire de grandes populations de plantes élevées dans des conditions contrôlées et de traçabilité, d'améliorer la précision et la reproductibilité de l'évaluation de la résistance mais aussi de réduire le temps et l'espace nécessaires. Cet outil devrait permettre de continuer à réaliser l'inventaire des sources de résistance et pour certaines d'entre elles, de cartographier les QTLs de résistance sur le génome. Ces données permettront d'accélérer et de mieux orienter la sélection.

**Références bibliographiques :**
Blanc et al. (2012). TAG 125 : 1663-1675 - Blasi et al. (2011). TAG 123 : 43–53

**Apports de la sélection assistée par marqueurs dans la création de variétés de vigne à résistance plurigénique au mildiou et à l'oïdium**

E. Prado[1,2], C. Schneider[1,2], P. Blasi[1,2], S. Wiedemann-Merdinoglu[1,2], C. Onimus[1,2] et D. Merdinoglu[1,2]
←
← *[1]INRA, UMR 1131 SVQV, 68000 Colmar, France ; [2]Université de Strasbourg, UMR 1131 SVQV, 68000 Colmar, France*

Les techniques de marquage et de cartographie génétiques ont permis de repérer les régions chromosomiques (ou QTL) directement impliquées dans les caractères de résistance observés au sein de la famille des Vitacées. L'INRA a ainsi identifié plusieurs QTL de résistance, pour le mildiou ou pour l'oïdium, chez des vignes d'origine américaine (*Muscadinia rotundifolia*, *Vitis riparia*) ou asiatique (*Vitis amurensis).*
La connaissance de ces régions chromosomiques permet de développer des marqueurs moléculaires dont le polymorphisme allélique rend fidèlement compte de la présence/absence du caractère de résistance déterminé par ces régions. Il s'agit en particulier de marqueurs de type microsatellite, qui constituent alors des outils de sélection assistée par marqueurs (SAM), particulièrement efficaces et rapides à mettre en oeuvre.
Les progrès apportés par la SAM seront illustrés dans le cadre de la création de variétés de vigne résistantes aux maladies : (i) réduction considérable du temps nécessaire et du coût attaché au tri des descendances ; (ii) possibilité de traiter des effectifs très élevés, de plusieurs milliers d'individus par an ; (iii) identification des individus en fonction des QTL de résistance dont ils ont hérités. Le marquage moléculaire supplante de ce point de vue l'évaluation phénotypique, car pour un individu résistant, cette dernière ne permet pas de savoir si un ou plusieurs QTL de résistance sont présents dans son génome.
Grâce à cette propriété décisive, la SAM permet de pyramider des gènes de résistance et ainsi de sélectionner des variétés à résistances plurigéniques, ce qui est très avantageux tant pour l'efficacité des résistances que pour leur durabilité.

**Références bibliographiques :**
Blanc S et al. (2012) TAG 125: 1663 ; Blasi et al. (2011) TAG 123: 43 ; Marguerit et al. (2009) TAG 118: 1261 ; Merdinoglu et al. (2003) Acta Hort 603: 451 ; Merdinoglu et al. (2009) Progr Agr Vitic 126: 290.

## Liste des participants

| Nom | Prénom | Courriel | Organisme |
|---|---|---|---|
| Abidon | Céline | c.abidon@alsace.chambagri.fr | CARA |
| Ackerer | Léa | lea.ackerer@etu.unistra.fr | IBMP |
| Adjebli | Ahmed | ahmed.adjebli@gmail.com | Université de Bejaia |
| Alliaume | Antoine | antoine.alliaume@colmar.inra.fr | INRA |
| Ameline | Arnaud | arnaud.ameline@u-picardie.fr | UPJV |
| Audusseau | Corinne | corinne.audusseau@anses.fr | ANSES |
| Bah | Thierno | bah.thierno@alsace-vitae.com | ALSACE VITAE |
| Barret | Matthieu | matthieu.barret@angers.inra.fr | INRA |
| Barry-Etienne | Dominique | dominique.barry@alcina.fr | Alcina |
| Bencharki | Bouchaib | bbencharki@hotmail.com | Settat, Maroc |
| Bertsch | Christophe | christophe.bertsch@uha.fr | UHA |
| Beuve | Monique | monique.beuve@colmar.inra.fr | INRA |
| Blancard | Dominique | dblancar@bordeaux.inra.fr | INRA |
| Boissinot | Sylvaine | sylvaine.boissinot@colmar.inra.fr | INRA |
| Boureau | Tristan | tristan.boureau@univ-angers.fr | Univ. Angers |
| Brault | Véronique | veronique.brault@colmar.inra.fr | INRA |
| Caye | Thomas | thomas.caye@uha.fr | UHA |
| Chatot | Catherine | catherine.chatot@germicopa.fr | GERMICOPA R |
| Chong | Julie | julie.chong@uha.fr | LVBE |
| Choquer | Mathias | mathias.choquer@univ-lyon1.fr | Univ Lyon 1 - CNRS |
| Cigna | Jeremy | jeremy.cigna@comitenord-sipre.fr | CNRS - SIPRE |
| Clavijo | Gabriel | gabriel.clavijo@colmar.inra.fr | INRA |
| Cociancich | Stéphane | cociancich@cirad.fr | Cirad UMR BGPI |
| Comby | Morgane | mcomby@mnhn.fr | MNHN Paris |
| Corbière | Roselyne | Roselyne.Corbiere@rennes.inra.fr | INRA |
| Cousseau | Pascaline | pascaline.cousseau@anses.fr | LSV |
| David | Perrine | perrine.david@hmclause.com | HM.Clause |
| Debonneville | Christophe | debonneville@bioreba.ch | BIOREBA AG |
| Deglène-Benbrahim | Laurence | laurence.deglene-benbrahim@uha.fr | LVBE |
| Delame | Marion | marion.delame@colmar.inra.fr | INRA |
| Demangeat | Gérard | gerard.demangeat@colmar.inra.fr | INRA |
| Djennane | Samia | samia.djennane@colmar.inra.fr | INRA |
| Doffagne | Mélanie | melanie.doffagne@vilmorin.com | Vilmorin |
| Dron | Michel | michel.dron@u-psud.fr | IPS2 |
| Fabre | Frédéric | frederic.fabre@bordeaux.inra.fr | INRA |
| Faessel | Ludovic | ludovic.faessel@rittmo.com | RITTMO |
| Fagard | Mathilde | Mathilde.Fagard@versailles.inra.fr | INRA |
| Farine | Sibylle | sibylle.farine@uha.fr | LVBE |
| Fernandez | Diana | diana.fernandez@ird.fr | IRD |
| Frey | Pascal | pascal.frey@nancy.inra.fr | INRA |
| Galein | Yann | yann.galein@sesvanderhave.com | SES Vanderhave |
| Gatti | Miriam | miriam.gatti@u-psud.fr | IPS2 |
| Gellon | Mélanie | melanie.gellon@uha.fr | LVBE |

| | | | |
|---|---|---|---|
| German Retana | Sylvie | german@bordeaux.inra.fr | INRA |
| Gilbert | Claude | claude.gilbert@msh-alpes.fr | CEES HCB |
| Goddard | Mary-Lorène | mary-lorene.goddard@uha.fr | UHA |
| Gotté | Maxime | maxime.gotte@gmail.com | Université de Rouen |
| Greif | Charles | charles.greif@colmar.inra.fr | INRA |
| Grisoni | Michel | michel.grisoni@cirad.fr | CIRAD |
| Halter | David | david.halter@colmar.inra.fr | INRA |
| Herrbach | Etienne | Etienne.Herrbach@colmar.inra.fr | INRA |
| Herth | Marie | marie.herth@alsace-vitae.com | ALSACE VITAE |
| Hily | Jean-Michel | jean-michel.hily@colmar.inra.fr | INRA |
| Hipper | Clémence | clemence.hipper@arysta.com | Arysta LifeScience |
| Hleibieh | Kamal | kamal.hleibieh@ibmp-cnrs.unistra.fr | IBMP-CNRS |
| Hogenhout | Saskia | saskia.hogenhout@jic.ac.uk | John Innes Centre |
| Hommay | Gérard | gerard.hommay@colmar.inra.fr | INRA |
| Husson | Claude | claude.husson@nancy.inra.fr | INRA |
| Ioos | Renaud | renaud.ioos@anses.fr | ANSES |
| Khayi | Slimane | slimane.khayi@isv.cnrs-gif.fr | I2BC |
| Kim | Jeong-Gu | jkim5aug@korea.kr | NAAS |
| Koyyappurath | Sayuj | sayujscas@yahoo.co.in | CIRAD |
| L'Huillier | Clement | cle.lhuillier@gmail.com | ANSES |
| Ladjouzi | Rachid | ladjouzir@yahoo.fr | Université de Béjaia |
| Latorse | Marie-Pascale | marie-pascale.latorse@bayer.com | Bayer Cropscience |
| Le Gall | Olivier | Olivier.LeGall@paris.inra.fr | INRA |
| Le Jeune | Christine | christine.le-jeune@uha.fr | LVBE |
| Lebreton | Lionel | lionel.lebreton@rennes.inra.fr | INRA |
| Lecomte | Charline | charline.lecomte@dijon.inra.fr | INRA - Astredhor |
| Lederer | Julie | julie.lederer@hmclause.com | HM Clause |
| Lee | Byoung-Moo | lbmoo@korea.kr | NAAS |
| Leguay | Anne | anne.leguay@anses.fr | ANSES - LSV |
| Lemaire | Olivier | olivier.lemaire@colmar.inra.fr | INRA |
| Lepoivre | Philippe | philippe.lepoivre@ulg.ac.be | Agro-Bio Tech Gbx |
| Leymonie | Jean-Pierre | newagedit@calixo.net | New AG Int. |
| Leyronas | Christel | christel.leyronas@avignon.inra.fr | INRA |
| Loison | Marianne | m.loison@wanadoo.fr | Lagor Presse |
| Maillot | Pascale | pascale.maillot@uha.fr | UHA |
| Mallard | Stéphanie | stephanie.mallard@vilmorin.com | Vilmorin |
| Mazet | Flore | flore.mazet@uha.fr | UHA |
| Mboup | Mamadou | mamadou-kane.mboup@dupont.com | DuPont de Nemours |
| Merdinoglu | Didier | didier.merdinoglu@colmar.inra.fr | INRA |
| Monsion | Baptiste | baptiste.monsion@ibmp-cnrs.unistra.fr | IBMP |
| Morel | Jean-Benoît | jbmorel@cirad.fr | INRA |
| Mougel | Christophe | christophe.mougel@rennes.inra.fr | INRA |
| Mulot | Michaël | michael.mulot@colmar.inra.fr | INRA |
| Nesme | Xavier | xavier.nesme@univ-lyon1.fr | INRA / Univ. Lyon |
| Nguyen | Guillaume | guillaume.nguyen@etud.univ-angers.fr | IRHS |
| Ors | Marie-Eva | orsmarie-eva@hotmail.fr | Univ du Littoral |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Oye Anda | Corinne Coretta | accorretta@yahoo.com | IRAF/CENAREST |
| Paillard | Sandrine | sandrine.paillard@anses.fr | ANSES |
| Pelsy | Frédérique | frederique.pelsy@colmar.inra.fr | INRA |
| Perotin | Benjamin | benjamin.perotin@dupont.com | DuPont de Nemours |
| Petitot | Anne-sophie | anne-sophie.petitot@ird.fr | IRD |
| Poliakoff | Françoise | francoise.poliakoff@anses.fr | Anses |
| Portier | Perrine | perrine.portier@angers.inra.fr | INRA |
| Quaren | Régis | regis.quaren@fredon-alsace.fr. | Fredon |
| Ratet | Pascal | Pascal.Ratet@isv.cnrs-gif.fr | CNRS |
| Reignault | Philippe | philippe.reignault@univ-littoral.fr | Université du Littoral |
| Reinbold | Catherine | catherine.reinbold@colmar.inra.fr | INRA |
| Rezki | Samir | samir.rezki@angers.inra.fr | INRA |
| Rickauer | Martina | martina.rickauer@ensat.fr | INP-ENSAT |
| Ritzenthaler | Christophe | ritzenth@unistra.fr | IBMP |
| Sache | Ivan | ivan.sache@agroparistech.fr | AgroParisTech |
| Salhi | Nasrine | nesrinemed@yahoo.fr | Univ. Kasdi Merbah |
| Santrac | Inès | ines.santrac@philagro.fr | Philagro France |
| Sbeiti | Abed Al Latiff | abed.sbeiti@hotmail.com | INPT (ECOLAB) |
| Schmitt-Keichinger | Corinne | keichinger@unistra.fr | IBMP CNRS |
| Selim | Sameh | sameh.selim@lasalle-beauvais.fr | LaSalle Beauvais |
| Siah | Ali | ali.siah@isa-lille.fr | ISA Lille |
| Simonet | Pascal | pascal.simonet@ec-lyon.fr | EC Lyon |
| Soulié | Marie-Christine | marie-christine.soulie@upmc.fr | INRA |
| Steinberg | Christian | christian.steinberg@dijon.inra.fr | INRA |
| Stempien | Elodie | elodie.stempien@uha.fr | LVBE |
| Tarnus | Céline | celine.tarnus@uha.fr | UHA |
| Tassus | Xavier | xavier.tassus@anses.fr | ANSES |
| Tayeh | Christine | christine.tayeh@anses.fr | ANSES |
| Tharreau | Didier | tharreau@cirad.fr | CIRAD |
| Thuillier | Jordhan | jordhan.thuillier@anses.fr | ANSES |
| Valat | Laure | laure.valat@uha.fr | UHA |
| Vigne | Emmanuelle | emmanuelle.vigne@colmar.inra.fr | INRA |
| Volkoff | Anne-Nathalie | volkoff@supagro.inra.fr | INRA |
| Wiedemann-Merdinoglu | Sabine | sabine.merdinoglu@colmar.inra.fr | INRA |
| Ziegler-Graff | Véronique | veronique.ziegler-graff@ibmp-cnrs.unistra.fr | IBMP-CNRS |

# Nos partenaires

www.inra.fr

www.alsace-vitae.com

www.vinsalsace.com

www.region.alsace

www.agglo-colmar.fr

www.uha.fr

www.dupontdenemours.fr

www.peps.uha.fr

www.newaginternational.com

www.alsace-appro.fr

www.cave-turckheim.com

www.bioreba.ch

www.germicopa.com