



Naissance et diversification des effecteurs dans les génomes fongiques: le projet ANR FungIsochore

Thierry T. Rouxel, Bruno Le Cam, Joelle J. Amselem, P. Wincker,
Marie-Helene Balesdent

► To cite this version:

Thierry T. Rouxel, Bruno Le Cam, Joelle J. Amselem, P. Wincker, Marie-Helene Balesdent. Naissance et diversification des effecteurs dans les génomes fongiques: le projet ANR FungIsochore. 8. Rencontres de Phytopathologie - Mycologie de la Société Française de Phytopathologie (SFP), Jan 2010, Ausois, France. hal-02753379

HAL Id: hal-02753379

<https://hal.inrae.fr/hal-02753379>

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.

Evolutionary and functional dynamics of oomycete effector genes

S. Kamoun, T. O. Bozkurt, L. M. Cano, A. Chaparro-Garcia, R. Farrer, E. Huitema, R. Oliva, S. Raffaele, S. Schornack, M. Eugenia Segretin, M. van Damme, and J. Win

The Sainsbury Laboratory, Norwich, United Kingdom

Email: sophien.kamoun@tsl.ac.uk- Lab website: www.KamounLab.net

Eukaryotic plant pathogens, such as oomycetes and fungi, cause highly destructive diseases that negatively impact commercial and subsistence agriculture worldwide. These pathogens secrete an arsenal of effector proteins to modulate plant innate immunity and enable parasitic infection. Deciphering the biochemical activities of effectors to understand how pathogens successfully colonize and reproduce on their host plants became a driving paradigm in the field. This presentation will focus on effectors of oomycetes, such as the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*. Tremendous progress has been made recently in understanding the biology of oomycete effectors. Two classes of effectors target distinct sites in the host plant: apoplastic effectors are secreted into the plant extracellular space, while cytoplasmic effectors are translocated inside the plant cell, where they target different subcellular compartments. Of particular interest are the RXLR and Crinkler host-translocated (cytoplasmic) effectors that are characterized by conserved motifs following the signal peptide. The RXLR domain is functionally interchangeable with a malaria host targeting domain and functions in delivery into host cells. The recent completion of several oomycete genome sequences enabled genome-wide cataloguing of the effector secretome revealing hundreds of candidate effectors. Effectors are frequently organized in clusters of paralogous genes that localize in expanded, repeat-rich and gene-sparse regions of the genome. Many effector genes exhibit hallmarks of positive selection probably as a result of a coevolutionary arms race with host factors. We also utilized the discovered RXLR effectors in high-throughput *in planta* expression assays to screen for avirulence and virulence activities. The perturbations caused by these effectors is helping to elucidate the mechanisms of pathogenicity as well as further illuminate mechanisms of plant defense and innate immunity.

(1) Schornack, S., Huitema, E., Cano, L.M., Bozkurt, T.O., Oliva, R., van Damme, M., Schwizer, S., Raffaele, S., Chaparro-Garcia, A., Farrer, R., Segretin, M.E., Bos, J., Haas, B.J., Zody, M.C., Nusbaum, C., Win, J., Thines, M., and Kamoun S. 2009. Ten things to know about oomycete effectors. *Molecular Plant Pathology*, 10:795-803.

(2) Oh, S.-K., Young, C., Lee, M., Oliva, R., Bozkurt, T., Cano, L.M., Win, J., Bos, J.I.B., Liu, H.-Y., van Damme, M., Morgan, W., Choi, D., van der Vossen, E.A.G., Vleeshouwers, V., and Kamoun, S. 2009. *In planta* expression screens of *Phytophthora infestans* RXLR effectors reveal diverse phenotypes, including activation of the *Solanum bulbocastanum* disease resistance protein Rpi-blb2. *Plant Cell*, 21:2028-2947.

Keywords: oomycètes, effector proteins, RXLR effectors

Périgord black truffle genome uncovers evolutionary origins and mechanisms of symbiosis

F. Martin pour le Tuber Genome Consortium

UMR 1136 Interactions Arbres - Microorganismes (IAM), Equipe Ecogénomique des interactions, Centre INRA de Nancy, 54280 Champenoux, France

The Périgord black truffle and the Piedmont white truffle dominate today's truffle market. The worldwide demand for these delicacies has fuelled intense efforts at cultivation. Identification of developmental processes that condition and trigger fruit body and symbiosis formations, ultimately leading to more efficient truffle crop production will be facilitated by a thorough analysis of truffle genomic traits. The hypogeous fruiting body of the Périgord black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.) is legendary gastronomic treasure produced by an ectomycorrhizal symbiont endemic to calcareous soils in southern Europe. Ectomycorrhizal (ECM) fungi establish a mutualistic symbiosis with host trees and as such are essential contributors to nutrient cycles in woodland and forest soils. In the ECM basidiomycete *Laccaria bicolor* the expansion of gene families may have acted as a 'symbiosis toolbox' and might thus be a landmark of symbiosis evolution. However, this feature may reflect evolution of this particular taxon and not a general trait shared by all ECM species. To get a better understanding of the biology and evolution of ECM symbiosis, we report here the sequence of the haploid genome of *T. melanosporum*, which at ~125 megabases (Mb) is by far the largest and most complex fungal genome sequenced so far. This expansion results from a proliferation of transposable elements accounting for ~58% of the genome. In contrast, this genome only contains ~ 7,500 protein-coding genes with very rare multigene families. It lacks large sets of carbohydrate cleaving enzymes, but a few of them involved in degradation of plant cell walls are induced in symbiotic tissues. Symbiosis induces an increased expression of carbohydrate and amino acid transporters in both *L. bicolor* and *T. melanosporum*, but the comparison of genomic traits in the two ECM fungi showed that genetic predispositions for symbiosis - 'the symbiosis molecular toolbox' - evolved along different ways in ascomycetes and basidiomycetes.

Keywords: Genomics, evolution, symbiosis, ectomycorrhiza

Identification de nouveaux effecteurs et voies métaboliques d'oomycètes par analyse génomique d'*Aphanomyces euteiches*

E. Gaulin, M.-A. Madoui, M. Larroque, A. Bottin, B. Dumas

UMR 5546 CNRS-Université Paul Sabatier, Pôle de Biotechnologie Végétale, Castanet-Tolosan

Aphanomyces euteiches est un oomycète, parasite racinaire de légumineuses comme le pois fourrager, la luzerne et la plante modèle *Medicago truncatula*. Le genre *Aphanomyces*, membre des Saprolegniales, occupe une position taxonomique originale au sein des Oomycètes, et il est le seul qui, selon les espèces, est responsable de maladies affectant soit des végétaux soit des animaux. Afin de combler le manque de connaissances sur les Saprolegniales, des approches génomiques ont été engagées avec la création d'une collection d'ESTs correspondant à deux banques d'ADNc obtenues à partir de mycelium ou en interaction avec des racines de *M. truncatula*. Environ 8000 unigènes ont été annotés et déposés dans une banque de données, AphanoDB (Madoui *et al.*, 2007; www.polebio.scsv.ups-tlse.fr/aphano/). La comparaison des séquences d'*A. euteiches* avec les protéomes issus du séquençage de différents génomes dont ceux d'oomycètes et parasites d'animaux (*Trypanosoma brucei*, *Plasmodium falciparum*) et de diatomées (*Thalassiosira pseudonana*), a permis l'identification de voies métaboliques et de classes d'effecteurs de pathogénie jamais décrites chez les oomycètes (Gaulin *et al.*, 2008). *A. euteiches* est en particulier capable de synthétiser, contrairement à d'autres oomycètes (*Phytophthora*, *Pythium*, *Peronospora* ...), des composés cellulaires essentiels tels que les stérols membranaires. En combinant des approches moléculaires et biochimiques, une voie complète de synthèse de stérols qui aboutit au fucostérol, un stérol typique des algues brunes, a été décryptée (Madoui *et al.*, 2009). La recherche de gènes codant des protéines sécrétées a montré l'expansion de certaines familles, en particulier des protéases. Cette analyse a également conduit à l'identification d'orthologues aux gènes CRNs (Crinkling and Necrosis) identifiés initialement chez *Phytophthora infestans* (Torto *et al.*, 2003). Les protéines CRNs de *Phytophthora* sp. sont caractérisées par un motif conservé de type LFLAK, en aval du peptide signal, probablement impliqué dans la translocation dans la cellule végétale (Haas *et al.*, 2009) et un motif similaire, LYLALK, est présent chez les protéines d'*A. euteiches*. La conservation de ces protéines chez des organismes distants au niveau phylogénique suggère un rôle important dans l'interaction. Ces premières analyses comparatives vont être complétées par l'obtention prochaine de la séquence génomique d'*A. euteiches* qui sera obtenue en collaboration avec le Génoscope et la plateforme Bioinformatique du Génomus Toulouse Midi-Pyrénées.

(1) Gaulin, E., Madoui, M.A., Bottin, A., Jacquet, C., Mathé, C., Couloux, A., Wincker, P., Dumas, B. (2008) Transcriptome of *Aphanomyces euteiches*: new oomycete putative pathogenicity factors and metabolic pathways. PLoS One 3: e1723

(2) Haas, B.J., Kamoun, S., *et al.*, (2009) Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*. Nature 461: 393-398.

(3) Madoui, A., Bertrand-Michel, J., Gaulin, E., Dumas, B. (2009) Sterol metabolism in the Oomycete *Aphanomyces euteiches*, a legume root pathogen. New Phytol. 183: 291 -300

(4) Madoui, M.A., Gaulin, E., Mathé, C., San Clemente, H., Couloux, A., Wincker, P., Dumas, B. (2007) AphanoDB: a genomic resource for *Aphanomyces* pathogens. BMC Genomics 8:471

(5) Torto, T.A., Li, S., Styer, A., Huitema, E., Testa, A., Gow, N.A., van West, P. and Kamoun, S. (2003) EST mining and functional expression assays identify extracellular effector proteins from the plant pathogen *Phytophthora*. Genome Res, 13, 1675-1685.

Mots-clés : oomycètes, légumineuses, *Aphanomyces*, effecteur, métabolisme, génomique

Naissance et diversification des effecteurs dans les génomes fongiques : le projet ANR FungIsochore

T. Rouxel (1), B. Le Cam (2), J. Amselem (3), P. Wincker (4), M-H. Balesdent (1)

(1) INRA-Bioger, Campus AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon

(2) UMR PAVE77-INRA, 42, Rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé

(3) INRA-URGI/Bioger, Route de Saint-Cyr 78026 Versailles cedex

(4) Genoscope, Centre National de Séquençage, 2, rue Gaston Crémieux, CP5706, 91057 Evry Cedex

Le champignon phytopathogène *Leptosphaeria maculans* présente la particularité d'avoir un génome organisé en isochores : il présente des alternances marquées entre grandes régions au taux de GC homogène. Les isochores riches en AT représentent 36% du génome et sont constitués d'éléments transposables (ET) tronqués et dégénérés. Par rapport aux régions plus conventionnelles du génome riches en gènes et pauvres en ET, les isochores AT sont aussi fortement enrichis en effecteurs, potentiellement impliqués dans la pathogenèse fongique. Nous présenterons ici le projet ANR FungIsochores dont l'objectif est de savoir si l'on peut généraliser à d'autres agents pathogènes fongiques le rôle des isochores AT en tant que «niche écologique» spécifique pour les effecteurs dans le génome, et d'analyser le long d'une série évolutive les événements à l'origine de la génération des isochores et de l'acquisition/diversification des effecteurs. Il s'agira de séquencer de novo (Sanger & Titanium 454) l'intégralité du génome de l'agent de la tavelure du pommier, *Venturia inaequalis*, choisi car des données préliminaires suggèrent une structuration du génome en isochores similaire à celle de *L. maculans* (et la présence spécifique d'effecteurs au sein des isochores AT). En parallèle, il s'agira de séquencer quatre espèces/sous-espèces du complexe *Leptosphaeria* (*L. maculans* 'lepidii', *L. biglobosa* 'brassicae', *L. biglobosa* 'thlaspii' et *L. biglobosa* 'canadensis'), correspondant à une série évolutive aboutissant en final à *L. maculans* (Titanium 454 & Solexa). FungIsochores utilisera ces données de séquence annotées pour développer des analyses plus spécifiques : (i) présence et caractéristiques des isochores dans le génome de *V. inaequalis*, (ii) annotation des ETs et histoire de l'invasion des génomes par les ETs puis de leur inactivation dans la série évolutive *Leptosphaeria*, (iii) génomique comparative entre les espèces/sous-espèces de la série évolutive *Leptosphaeria* pour évaluer l'incidence des ET sur la génération des isochores, le remodelage du génome et le gain/perte de gènes pertinents pour la pathogenèse, (iv) recherche systématique d'effecteurs dans les génomes des espèces séquencées, recherche d'indications d'acquisition non conventionnelle (transfert horizontal), et analyse fonctionnelle des effecteurs dans la série évolutive *Leptosphaeria*.

Mots-clés : effecteurs, isochores, éléments transposables, RIP

Le génome de *Melampsora larici-populina*, l'agent de la rouille foliaire du peuplier

S. Duplessis (1) pour le *Melampsora* Genome Consortium (2)

(1) UMR 1136 Interactions Arbres - Microorganismes (IAM), Equipe Ecogénomique des interactions, Centre INRA de Nancy, 54280 Champenoux, France

(2) *Melampsora* Genome Consortium : UMR 1136 IAM INRA-Nancy Université ; US Department of Energy, Joint Genome Institute, Walnut Creek, CA, Etats-Unis ; Service Canadien des Forêts, Québec, Canada ; Department of Plant Systems Biology, VIB, Ghent, Belgique ; UMR 6098 CNRS-Universités Aix-Marseille I, Marseille.

La maladie de la rouille foliaire du peuplier, causée par le basidiomycète *M. larici-populina* provoque des pertes économiques importantes en populiculture. Actuellement, tous les cultivars de peuplier utilisés en Europe sont sensibles à *M. larici-populina* et il apparaît essentiel de comprendre les bases moléculaires qui gouvernent l'établissement de la maladie. Après le séquençage du génome du peuplier, le Joint Genome Institute (JGI, DoE, Etats-Unis) a entrepris le séquençage de plusieurs génomes de micro-organismes fongiques qui interagissent avec l'arbre dans son écosystème. Le JGI a ainsi récemment séquencé le génome de *M. larici-populina* d'une taille de 101Mb avec une profondeur moyenne de 7X. L'annotation *ab-initio* du génome a conduit à l'identification de près de 17 000 modèles de gènes. De manière surprenante, plus de la moitié de ces gènes ne possède pas d'homologues chez d'autres champignons, à l'exception de *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, seul autre Pucciniales dont le génome est disponible, avec près d'un quart des gènes spécifiques aux Pucciniales. Par ailleurs, 33% des gènes prédits s'avèrent être uniques à *M. larici-populina*. Ces gènes propres aux rouilles sont susceptibles de coder des protéines nécessaires pour réaliser l'infection des tissus de l'hôte. L'annotation experte de familles de gènes potentiellement impliquées dans le processus infectieux a permis de mettre en évidence des spécificités propres aux rouilles. Une attention plus particulière a été portée au sécrétome du champignon qui contient vraisemblablement des effecteurs protéiques impliqués dans la virulence. L'analyse plus précise des gènes codant des petites protéines sécrétées révèle des caractéristiques singulières avec des motifs riches en cystéines conservés au sein de familles géniques organisées en clusters. L'utilisation d'approches globales pour l'analyse du transcriptome du champignon (puces à oligonucléotides NimbleGen, pyroséquençage d'ESTs de tissus infectés par 454) a permis de mettre en évidence des transcrits fortement accumulés lors de la colonisation des tissus foliaires, ainsi que dans différents types de spores, nous donnant une meilleure vision de la biologie du champignon et nous permettant d'identifier des facteurs de virulence candidats. Le séquençage de ce génome est un atout majeur pour faire progresser les connaissances sur les champignons biotrophes responsables de maladies à rouille chez les plantes. Avec les séquences des génomes de l'hôte et du pathogène à disposition, le pathosystème *Populus/Melampsora* s'avère être un excellent modèle en pathologie forestière.

* Joint Genome Institute, Department of Energy, USA - <http://genome.jgi-psf.org/>

* *Melampsora* Genome Consortium - <http://mycor.nancy.inra.fr>