



HAL
open science

livre blanc "effectoromics"

Nemo Peeters, . Réseau Effectome

► **To cite this version:**

| Nemo Peeters, . Réseau Effectome. livre blanc "effectoromics". 2014. hal-02791891

HAL Id: hal-02791891

<https://hal.inrae.fr/hal-02791891>

Submitted on 5 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.

Livre blanc « EFFECTOROMICS »

1) Introduction

Les plantes sont soumises à un large spectre de parasites. Ceux-ci sont responsables d'une perte importante de production agricole. La sélection génétique, l'utilisation de pesticides ainsi que des pratiques culturales adaptées permettent de réduire cette perte, estimée globalement à 15% (avant récolte et hors insectes) [1]. Sachant que l'augmentation nécessaire de la production agricole pour subvenir aux besoins d'une population mondiale en expansion (9 milliard en 2050) va probablement s'accompagner d'une agriculture plus intensive sur des terres moins fertiles, avec moins de ressources en eau, il est prévisible que les pertes dues aux maladies et parasites vont s'accroître. Une meilleure performance de la lutte contre les maladies constitue un bon levier pour augmenter la productivité de la production agricole [1].

Bien avant la compréhension des mécanismes sous-jacents, des décennies de sélection variétale, ont permis d'introduire des gènes de résistance (gènes *R*) dans un grand nombre d'espèces cultivées. Cet effort permet une bonne protection contre un grand nombre de bioagresseurs.

Malheureusement la durée de vie d'un gène *R* au champ est souvent limitée par la plasticité génétique des bioagresseurs. En effet, les gènes *R* sont « activés » par le produit de gènes de virulence des parasites (les « effecteurs »), et la pratique de la monoculture dans l'agriculture moderne exerce une pression de sélection forte sur ceux-ci entraînant l'apparition de variants n'activant plus la résistance [2]. Sachant que les parasites sont en général « suréquipés » en gènes de virulence avec de la redondance, parfois génétique et très souvent fonctionnelle, la perte ou la mutation d'un gène de virulence n'a que peu d'impact sur leur pouvoir pathogène « global ».

Afin de pallier cet avantage compétitif du parasite, la sélection de nouvelles résistances ayant une plus grande durabilité au champ doit être accompagnée de la connaissance détaillée de l'arsenal des facteurs de virulence des populations de pathogènes, et mieux encore de l'identification des cibles des facteurs de virulence conservés dans ces populations, dans les plantes d'intérêt agronomique.

2) Pourquoi un livre blanc ?

Les avancées scientifiques des trois dernières décennies ont permis de décrire au niveau moléculaire les mécanismes de virulence et de résistance impliqués dans les interactions entre des plantes et des parasites modèles impliquant des virus, des bactéries, des champignons, des oomycètes, des nématodes ou des insectes. Le transfert de ces connaissances des systèmes modèles vers des applications innovantes pour une résistance plus durable des cultures s'est accéléré et devrait permettre à terme:

- Une détection et introgression plus efficace de gènes *R*.
- L'identification de nouveaux types de résistances sur la base d'une meilleure connaissance des mécanismes de pathogénie (résistance par perte de sensibilité)
- Une évaluation du potentiel de durabilité des gènes *R* et d'autres types de résistance basée sur l'action d'effecteurs avant leur utilisation en sélection.
- Une surveillance spatio-temporelle des populations d'agents pathogènes pour une veille du possible contournement des résistances.

Les connaissances permettant ces approches innovantes pour une résistance plus durable sont le fruit du travail d'une communauté internationale très large dans laquelle la recherche française se trouve très bien, positionnée. Des chercheurs français avec le leadership de l'INRA ont souvent été les coordinateurs ou ont fait des contributions importantes, notamment, dans les projets de génomique portant sur des plantes cultivées et leurs bio-agresseurs.

Dans un contexte international compétitif, des collègues étrangers ont clairement pris position pour une recherche finalisée ambitieuse [3, 4]. Or, à cause de moyens insuffisants et d'une politique encore trop timide, beaucoup d'équipes INRA rencontrent des difficultés pour mettre en place des stratégies innovantes de recherche à haut débit pour identifier et caractériser les effecteurs des agents pathogènes menaçants les cultures d'intérêt majeur et de définir leur mode d'action dans les plantes. Ces effecteurs sont des molécules produites par les agents pathogènes ou symbiotiques qui sécrétées *in planta* modulent la réponse de la plante. Ils incluent ainsi les éliciteurs, les produits des gènes de virulence et d'avirulence ainsi que les toxines hôte spécifiques.

Nous pensons qu'il est nécessaire que notre communauté nationale dispose de moyens plus importants et soit d'avantage structurée pour participer pleinement à l'effort international de recherche sur le pouvoir pathogène et la résistance des plantes et pour être moteur dans le transfert de ces connaissances vers des applications.

Ce livre blanc a pour but d'approfondir cette analyse et de proposer des actions concrètes. Ceci pourrait permettre d'établir une stratégie concertée de recherche sur les effecteurs et leur lien avec la résistance végétale en vue d'accélérer le transfert de ces connaissances vers des applications en agriculture

3) Bilan d'étape

Structuration d'une communauté de chercheurs

Depuis 2008, nous avons proposé de structurer la communauté de chercheurs qui, en France et majoritairement à l'INRA, travaille sur l'immunité des plantes et leurs parasites et s'intéressent à décrypter les mécanismes de virulence et de résistance associés aux effecteurs de pathogénie de ces parasites. Ceci a pris forme en 2009 par la création du réseau INRA SPE « EFFECTOME ». Ce réseau nous a permis d'organiser un colloque annuel rassemblant entre 50 et 70 personnes d'une communauté qui compte une centaine de membres. Cette communauté étudie les interactions plantes-microorganismes pathogènes ou symbiotiques, provient majoritairement du département SPE INRA, mais également d'autres départements (EFPA, BAP) ainsi que d'autres organismes publics français (CNRS, IRD, CIRAD, Universités). Cette organisation en réseau avec un colloque annuel a permis, aux différents acteurs concernés de se rencontrer et d'échanger sur leurs questions et résultats scientifiques. Ces dialogues ont déjà été fructueux, car un certain nombre de projet de recherches financés ont germé au cours de ces rencontres. D'autres productions du réseau sont les publications jointes ainsi que la mise en place et la coordination du réseau européen COST SUSTAIN (2013-2018) qui fédère 200 partenaires issue de plus de 60 institutions et entreprises, et 25 pays.

Ces colloques ont également permis de faire le constat commun d'un besoin de passer à une étape suivante, qui devrait être une structuration opérationnelle permettant de mutualiser certains efforts de recherche.

Des avancées notables dans la génomique et la bioinformatique

Des équipes INRA sont très bien positionnées dans ce domaine de recherche. Elles ont été très impliquées dans des projets nationaux et consortiums internationaux qui ont mené les séquençages de plantes cultivées importantes (vigne, blé, peuplier, tomate, ...) et les analyses pan-génomique d'agents phytopathogènes, permettant la production d'une connaissance approfondie des effecteurs de pathogénie. Il est important de noter ici que les projets de génomique ont grandement bénéficié d'une infrastructure bioinformatique (assemblages, annotations [5, 6], génomique comparative [7]) particulièrement bien structurée au sein du département SPE.

Nous citerons comme projets : i) le séquençage de la première bactérie phytopathogène à sécrétion de type III: *Ralstonia solanacearum* [8] et plus de 100 génomes de souches de différents *Xanthomonas* [9–15], ii) les nombreux projets de séquençage de champignons phytopathogènes tel que *Leptosheria maculans* [16], *Colletotrichum spp* [17], *Sclerotinia sclerotiorum* et *Botrytis cinerea* [18], *Blumeria graminis* [19], *Melampsora larici-populina*, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* [20] ainsi que les travaux en cours sur *Venturia inequalis*, iii) les travaux de génomique sur les oomycètes pathogènes de cultures importantes telles que le tournesol [21], la tomate, la pomme de terre, le poivron, le pois et la vigne [22, 23], iv) les travaux précurseurs de séquençage du nématode à galles *Meloidogyne incognita* [24], et v) les travaux de séquençage du génome du puceron du pois *Acyrtosiphon pisum* [25].

Ces travaux de séquençage et d'annotation des génomes de parasites de plantes ont permis aux différentes équipes impliquées de définir au niveau de l'isolat, voire de populations les répertoires

d'effecteurs de pathogénie [26–28], et ainsi décrire le « potentiel de virulence » des ces parasites permettant dans certains cas d'établir le répertoire d'effecteurs conservés dans différents isolats du même parasite et de définir ainsi un « core effectome », particulièrement intéressant pour la recherche de nouvelles sources de résistance.

En plus de ces travaux descriptifs, les différentes équipes du réseau EFFECTOME s'intéressent aux mécanismes moléculaires spécifiques d'un certain nombre d'effecteurs remarquables. Ceci a déjà permis à ces équipes de développer des outils et des approches performantes ainsi qu'une expertise applicable aux pathosystèmes d'importance agronomique. A travers le réseau EFFECTOME sont apparues les forces particulièrement importantes sur (i) les maladies de la tomate provoquées par différents types d'organismes (bactéries, nématodes, oomycètes), (ii) les maladies à fort impact sur les grandes cultures de céréales (Septoriose, Fusariose, Pyriculariose), de Colza (*Leptosphaeria* et *Sclerotinia*, *Xanthomonas*) ainsi que sur l'arboriculture du pommier (*Venturia*, *Erwinia*) et du peuplier (*Melampsora*), (iii) des maladies provoquées par des oomycètes tels que le mildiou du tournesol, de la pomme de terre, de la tomate et de la vigne ou la pourriture racinaire du pois. L'étude des mécanismes de virulence des pucerons a également été reconnue comme une thématique particulièrement importante.

4) Deux exemples de mise en œuvre pratique d'approches de type « effectoromics »

Pyrenophora tritici-repentis et *Parastagonospora nodorum* sont des champignons nécrotrophes qui provoquent des maladies importantes sur le blé entraînant des pertes très importantes en Australie, le sixième producteur de blé mondial. Grâce à la génomique et à l'analyse fonctionnelle, des effecteurs toxiques ont été identifiés comme déterminants majeurs du pouvoir pathogène. Il a ensuite été mis en évidence, génétiquement, que leurs cibles chez la plante agissent comme des gènes de sensibilité. Ces connaissances ont été utilisées pour le développement de tests simples basés sur l'injection de protéines recombinantes et permettant de mettre en évidence la sensibilité aux effecteurs toxiques dans des lignées de blé. Ces tests fournissent d'excellents indicateurs/estimateurs pour la sensibilité à la maladie et ont été adaptés à l'évaluation du matériel végétal pendant le processus de sélection. Les sélectionneurs de blé australien ont rapidement adopté ce test et l'utilisent en routine dans leur schéma de sélection. Cette approche de sélection « par effecteur » s'est rapidement imposée car elle présente de nombreux avantages par rapport à la sélection assistée par marqueurs ou celle basée sur des tests d'infection [29].

Phytophthora infestans, l'agent causal du mildiou de la pomme de terre [29, 30] provoque des pertes importantes estimées à 14-22% en 1998, malgré l'utilisation de pesticides [31, 32]. Dans le contrôle de cette maladie, le déploiement de gènes de résistance dans des variétés élites a joué un rôle important et possède encore un fort potentiel en termes d'amélioration des rendements.

Les travaux de collègues néerlandais et britanniques, travaillant de manière collaborative et concertée, ont mené à une bonne connaissance des effecteurs de *P. infestans*. Sur cette base, ils ont développé une méthode nommée « Effectoromics » pour le clonage et l'introgession de gènes de résistance. Cette approche est basée sur l'expression transitoire des effecteurs et permet aux sélectionneurs de détecter de nouveaux gènes *R* dans les espèces apparentées à la pomme de terre et de les suivre pendant la sélection. Elle présente de multiples avantages par rapport aux tests d'infections classiquement utilisés et la sélection assistée par marqueurs, ce qui a conduit les sélectionneurs à l'utiliser en routine.

La bonne connaissance des effecteurs qui déclenchent la résistance à *P. infestans* est également exploitée pour une surveillance épidémiologique au niveau moléculaire. L'analyse de la séquence des effecteurs d'avirulence dans des isolats collectés en continu au champ permet de détecter précocement le contournement d'une résistance et de limiter l'utilisation préventive de pesticides [33].

5) Les perspectives

Néanmoins, dans le contexte actuel du financement de la recherche en France, il s'avère très difficile d'obtenir des moyens pour effectuer des analyses fonctionnelles à grande échelle sur les effecteurs de chacun de ces pathosystèmes d'importance agronomique. Néanmoins, ces types d'analyses sont en train d'être initiées ou l'ont déjà été par nos compétiteurs dans d'autres pays. Ainsi, il est à craindre que les équipes INRA perdent en compétitive dans cette étape d'analyse fonctionnelle malgré leur bon positionnement initial dans ce domaine de recherche.

Dans la recherche sur la relation entre les effecteurs du pouvoir pathogène et la résistance des plantes, quatre objectifs bien définis sont apparus au cours des dernières années avec comme exemples particulièrement instructifs les travaux sur les effecteurs de *Stagonosporum nodorum* qui provoque une forme de la septoriose du blé, et *Phytophthora infestans* qui provoque le mildiou de la pomme de terre.

Les effecteurs comme outils de détection et clonage de gènes *R*

En ayant à disposition le répertoire des effecteurs, il est possible par expression transitoire dans la plante hôte de cribler le « germplasm » sexuellement compatible et disponible afin de détecter de nouveaux gènes *R*. L'expression d'effecteurs isolés comme outils, à la place du pathogène, permet de détecter et cloner des gènes *R* de manière plus rapide et économique [34, 35]. De plus, la connaissance de la distribution et du polymorphisme des effecteurs dans les populations permet de choisir les gènes *R* à large spectre qui reconnaissent des « core effecteurs » présents dans une très large majorité des isolats. A terme, la connaissance précise des matrices d'interactions entre « core effecteurs » et gènes *R* devrait permettre de générer de nouveaux allèles de gènes *R* (par édition de génome [36]) avec un potentiel de reconnaissance accrue [37].

Ces approches nécessitent une bonne connaissance de l'effectome de l'agent pathogène, la maîtrise de systèmes d'expression transitoire fiables et de phénotypage efficaces ainsi que d'approches de clonages à haut débit.

Identification de gènes de sensibilité par l'étude des cibles végétales des effecteurs

Les gènes de sensibilité ou encore « gènes d'accueil » sont des gènes de la plantes indispensable au développement et à la croissance de l'agent pathogène au sein de son hôte. Ces gènes permettent une résistance par perte de sensibilité, sont bien connus des sélectionneurs car ils ont montré une très bonne durabilité aux champs (exemple du gène *mlo* de l'orge [38]).

Les effecteurs des pathogènes ciblent des fonctions de l'hôte soit pour atténuer la réponse immunitaire soit pour faciliter leur sustentation [39]. Cette reprogrammation des fonctions de l'hôte est bien illustrée par le cas des effecteurs de pathogénie bactérien TAL qui par leur activité transcriptionnelle induisent l'expression de transporteurs d'efflux de saccharose dans les cellules de riz infectées, pour le bénéfice direct de la bactérie pathogène [40]. Parmi les cibles des effecteurs, on peut identifier des produits de gènes de sensibilité qui doivent être modifiés pour permettre le développement. Des allèles naturels ou induites de ces cibles importants sont de bons candidats

pour de nouvelles formes de résistance durable. En particulier, les cibles végétales nœud ou « hub » visées par de multiples effecteurs provenant d'un ou plusieurs pathogènes différents sont particulièrement intéressantes puisque leurs allèles insensibles ont le potentiel de conférer la résistance à de multiples pathogènes [41, 42].

Ces approches nécessitent une bonne connaissance des protéines et voies cellulaires ciblées par les effecteurs. Pour l'obtenir, des analyses fonctionnelles en systèmes homologue et hétérologue associés à des systèmes de clonage et de criblages à haut débit sont nécessaires. De plus, une bonne connaissance du "core effectome" est requise pour identifier les effecteurs présents dans l'ensemble des isolats. En effet, si un effecteur est conservé et que l'on trouve ou non un gène *R* dans le germplasm (voir ci-dessus), il est important de rechercher les cibles de ces effecteurs afin de tester si certaines peuvent être des régulateurs des réponses immunitaires ou plus directement être impliquées dans la nutrition du pathogène. L'identification de cibles « hub » est d'autant plus intéressante car ces nœuds de signalisation sont probablement des maillons faibles dans le réseau d'interaction. La découverte d'allèles issus de variants naturels ou artificiels (TILLING et écoTILLING), pourrait ouvrir la voie à l'identification de mécanismes de Résistance par perte de sensibilité.

Evaluation du potentiel de durabilité de gènes *R* et d'autres résistances reposant sur l'activité des effecteurs.

Une résistance est d'autant plus durable que l'effecteur qui l'induit est important pour la fitness et la virulence de l'agent pathogène. Une fréquence de présence élevée dans les populations naturelles ainsi que des traces de sélection forte sur un effecteur sont de bons indicateurs qu'il contribue fortement à la fitness et au pouvoir pathogène. L'analyse de mutants de perte de fonction de l'effecteur permet de le valider et donner une indication sur le potentiel de durabilité d'une résistance correspondante. Une bonne connaissance des mécanismes d'action des effecteurs permet d'identifier des possibles compensations pour la perte d'un effecteur. Ces approches nécessitent des études de perte de fonction par exemple par la construction d'isolats mutants ou le HIGs (host-induced-gene-silencing).

Les effecteurs comme outils de diagnostic spatio-temporel des populations de pathogènes.

L'évaluation spatio-temporelle de la durabilité d'une résistance déployée au champ est possible en suivant la présence du ou des effecteurs déclencheurs dans les populations de l'agent pathogène. Ce type de diagnostic en temps réel a été développé pour le mildiou de la pomme de terre. Une étude pilote a permis de générer une alerte en cas d'apparition de souches virulentes dans les populations locales, déclenchant une application adaptée et raisonnée de pesticides [33].

De plus, les mécanismes permettant la perte ou la mutation des effecteurs d'avirulence ainsi que les facteurs environnementaux ou les pratiques culturales les favorisant peuvent être identifiés afin d'éviter ou d'anticiper les contournements des résistances.

Ceci nécessite des connaissances génomiques, pas seulement de quelques souches-type, mais d'un grand ensemble d'isolats, permettant d'avoir une vision populationnelle du potentiel de virulence à différentes échelles spatio-temporelles [43–46]. Enfin, une bonne coordination entre les

pathologistes de terrain et les experts en génomique des populations des agresseurs sont importants [47].

6) Recommandations

Nous pensons que ce domaine de recherche est important pour que l'INRA puisse répondre à sa mission de protection sanitaire des plantes. De plus, une plus forte structuration permettrait d'intensifier les interactions entre équipes travaillant sur les effecteurs d'agents pathogènes d'une même plante hôte ou d'un même type et les interactions entre équipes travaillant sur le pouvoir pathogène chez les agents pathogènes et les équipes travaillant sur la résistance chez la plante hôte correspondante. Ci-dessous, **nous proposons** des pistes permettant d'initier une telle stratégie de recherche d'envergure nationale et mutualisée pour atteindre certains objectifs d'amélioration variétale et participer au rayonnement de l'INRA.

Recommandation 1 : Afin de compléter la connaissance sur les agents pathogènes, il est important de poursuivre les approches de génomique comparative en augmentant le nombre de souches pathogènes séquencées. Cet effort est essentiel pour identifier les effecteurs communs et spécifiques dans les populations naturelles de parasites et pour exploiter les connaissances sur les effecteurs pour un « monitoring » des contournements des résistances. Une meilleure coordination entre les pathologistes de terrain et les experts en génomique des populations des agresseurs est souhaitable. Nous pensons que la chute spectaculaire des prix de séquençage va permettre à terme une connaissance exhaustive du potentiel de virulence des plus importants bioagresseurs des plantes cultivées. Une résultante importante de ce travail descriptif est la définition, pour chaque espèce de pathogènes, d'un groupe d'effecteurs conservés ou « core » effecteurs.

Recommandation opérationnelle : Continuer à soutenir (i) le séquençage à haut débit de large collection de souches de pathogènes, ainsi que (ii) l'analyse aval en termes d'annotation et de génomique comparative.

Recommandation 2 : Il serait souhaitable de mutualiser des moyens techniques pour une optimisation de l'expression transitoire dans des espèces d'intérêt agronomique et la plante modèle *N. benthamiana*. Il s'agirait d'établir une pratique commune de clonage (voire de synthèse de gènes) d'effecteurs dans des plasmides dédiés (probablement sur une base de type GoldenGate [48]), centralisés et mis à disposition. Ce savoir-faire existe de façon disparate et mériterait d'être recensé et disséminé de façon opérationnelle (distribution de matériel et de protocoles efficaces). La centralisation de ce type de ressources plasmidiques existe déjà dans d'autres centres de recherche en Europe [49, 50]. De plus, la mise en place concertée de l'expression transitoire dans des espèces stratégiques telles que blé apparaît comme une nécessité.

Recommandation opérationnelle 2 : Recenser et disséminer les ressources méthodologiques et plasmidiques nécessaires à l'expression transitoire des effecteurs dans les plantes d'intérêt agronomique et la plante modèle *N. benthamiana*. Un investissement initial à travers le recrutement d'un Assistant-Ingénieur (CDD d'un an) devrait permettre d'initier une base de données permettant

la dissémination de l'information. La distribution de ce type de ressource pourra être prise en charge par le CNRGV (<http://cnrgv.toulouse.inra.fr/>).

Recommandation 3 : Nous semble important d'investir dans la recherche systématique des cibles végétales des « core effecteurs » sur un nombre limité de plantes à intérêt agronomique. Sachant que la grande majorité des cibles végétales des effecteurs de pathogénie ont été trouvées par des criblages double-hybride dans la levure **nous proposons** qu'il y ait un effort concerté sur la construction et le criblage de banques d'ADNc dédiées au double-hybride, de quelques plantes agronomiques choisies (tomate, colza, blé, vigne et tournesol par exemple). Cette expertise existe dans différentes unités de l'INRA, mais un effort concerté dans les pratiques de criblage mais aussi d'analyse devrait permettre d'avancer considérablement dans cette stratégie globale d'analyse fonctionnelle des effecteurs de virulence.

Recommandation opérationnelle 3 : Proposer un effort concerté de construction de quelques banques d'ADNc dédiées aux cribles double-hybride (plantes infectées par des agents pathogènes, organes spécifiques) sur 5 espèces d'intérêt agronomiques cibles (tomate, blé, colza, tournesol, vigne). Il est intéressant de noter que de nouvelles méthodologies utilisant le séquençage à haut débit [51, 52] permettent d'accélérer fortement le criblage. La mise en place de criblages double hybride dans différentes équipes à partir des mêmes banques devrait permettre de mutualiser les protocoles et aussi les informations spécifiques sur chaque banque. Il devrait être envisagé de partager les informations de cibles d'effecteurs entre équipes participants aux cribles à fortiori s'il s'agit de la même banque.

La compétence bioinformatique nécessaire à l'analyse des criblages double-hybride est déjà disponible au sein du SPE et devra être mobilisée.

Recommandation n°4 :

Renforcer l'interaction entre équipes SPE et BAP travaillant sur les mêmes maladies ou types de maladies et/ou les mêmes plantes hôtes afin de s'assurer de synergies potentielles et d'accélérer le transfert de connaissances vers des applications.

Recommandation opérationnelle n°4 : Mis en place de groupes de travail - mini réseaux (sur fonds propres) e.g. maladies de solanacées, maladies des céréales, maladies fongiques, ...

A plus long terme des appels d'offres jointes entre départements SPE et BAP pour préparer des réponses jointes à des appels d'offres plus ambitieux (produire résultats préliminaire et 'tester' la collaboration).

7) Signataires

- *Nemo Peeters, CR1 INRA, Dept SPE, UMR441 LIPM, INRA Toulouse
- *Thomas Kroj, CR1 INRA, Dept SPE, UMR385 BGPI, INRA Montpellier
- *Valérie Nicaise, Chercheur INRA, post-doc Marie Curie, Dept SPE, UMR1332 BFP, INRA Bordeaux
- *Pere Mestre, CR1 Dept BAP, UMR1131 SVQVSPE, INRA Colmar
- *Laurent Noël, CR1 CNRS, Dept SPE, UMR441 LIPM, INRA Toulouse
- *Matthieu Arlat, Professeur, Université de Toulouse, Dept SPE, UMR441 LIPM, INRA Toulouse
- *Claire Veneault-Fourrey, Maître de conférences Université de Lorraine, Dept EFPA, UMR1136, INRA Nancy-Lorraine.
- *Bruno Favery, DR2 INRA, Dept SPE, UMR ISA, INRA PACA
- *Thierry Marcel, CR1 INRA, Dept SPE, UR1290 BIOGER-CPP, INRA Versailles-Grignon
- *Marie-Anne Barny, DR2 INRA, Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement, IEES, Paris.
- *Harald Keller, DR2 INRA, Dept SPE, UMR ISA, INRA PACA

8) Bibliographie

1. Popp J, Hantos K: **The impact of crop protection on agricultural production.** *Stud Agric Econ* 2011, **113**.
2. Gassmann W, Dahlbeck D, Chesnokova O, Minsavage GV, Jones JB, Staskawicz BJ: **Molecular evolution of virulence in natural field strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.** *J Bacteriol* 2000, **182**:7053–7059.
3. Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ: **Pivoting the plant immune system from dissection to deployment.** *Science* 2013, **341**:746–751.
4. Alfred J, Dangl JL, Kamoun S, McCouch SR: **New horizons for plant translational research.** *PLoS Biol* 2014, **12**:e1001880.
5. Gouzy J, Carrere S, Schiex T: **FrameDP: sensitive peptide detection on noisy matured sequences.** *Bioinforma Oxf Engl* 2009, **25**:670–671.
6. Foissac S, Gouzy J, Rombauts S, Mathe C, Amselem J, Sterck L, de Peer YV, Rouze P, Schiex T: **Genome Annotation in Plants and Fungi: EuGene as a Model Platform.** *Curr Bioinforma* 2008, **3**:87–97.
7. Courcelle E, Beausse Y, Letort S, Stahl O, Fremez R, Ngom-Bru C, Gouzy J, Faraut T: **Narcisse: a mirror view of conserved syntenies.** *Nucleic Acids Res* 2008, **36**(Database issue):D485–490.
8. Salanoubat M, Genin S, Artiguenave F, Gouzy J, Mangenot S, Arlat M, Billault A, Brottier P, Camus JC, Cattolico L, Chandler M, Choisine N, Claudel-Renard C, Cunnac S, Demange N, Gaspin C, Lavie M, Moisan A, Robert C, Saurin W, Schiex T, Siguier P, Thébault P, Whalen M, Wincker P, Levy M, Weissenbach J, Boucher CA: **Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*.** *Nature* 2002, **415**:497–502.
9. Bolot S, Guy E, Carrere S, Barbe V, Arlat M, Noël LD: **Genome Sequence of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* Strain Xca5.** *Genome Announc* 2013, **1**.
10. Jacques MA, Bolot S, Charbit E, Darrasse A, Briand M, Arlat M, Gagnevin L, Koebnik R, Noël LD, Portier P, Carrère S, Boureau T: **High-Quality Draft Genome Sequence of *Xanthomonas alfalfae* subsp. *alfalfae* Strain CFBP 3836.** *Genome Announc* 2013, **1**.
11. Darrasse A, Carrère S, Barbe V, Boureau T, Arrieta-Ortiz ML, Bonneau S, Briand M, Brin C, Cociancich S, Durand K, Fouteau S, Gagnevin L, Guérin F, Guy E, Indiana A, Koebnik R, Lauber E, Munoz A, Noël LD, Pieretti I, Poussier S, Pruvost O, Robène-Soustrade I, Rott P, Royer M, Serres-Giardi L, Szurek B, van Sluys M-A, Verdier V, Vernière C, et al.: **Genome sequence of *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans* strain 4834-R reveals that flagellar motility is not a general feature of xanthomonads.** *BMC Genomics* 2013, **14**:761.
12. Darrasse A, Bolot S, Serres-Giardi L, Charbit E, Boureau T, Fisher-Le Saux M, Briand M, Arlat M, Gagnevin L, Koebnik R, Noël LD, Carrère S, Jacques MA: **High-Quality Draft Genome Sequences of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Strains CFBP 2526 and CFBP 7119.** *Genome Announc* 2013, **1**.
13. Bolot S, Roux B, Carrere S, Jiang B-L, Tang J-L, Arlat M, Noël LD: **Genome Sequences of Three Atypical *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* Strains, CN14, CN15, and CN16.** *Genome Announc* 2013, **1**.

14. Bolot S, Munoz Bodnar A, Cunnac S, Ortiz E, Szurek B, Noël LD, Arlat M, Jacques M-A, Gagnevin L, Portier P, Fischer-Le Saux M, Carrere S, Koebnik R: **Draft Genome Sequence of the *Xanthomonas cassavae* Type Strain CFBP 4642.** *Genome Announc* 2013, **1**.
15. Moreira LM, Almeida NF, Potnis N, Digiampietri LA, Adi SS, Bortolossi JC, da Silva AC, da Silva AM, de Moraes FE, de Oliveira JC, de Souza RF, Facincani AP, Ferraz AL, Ferro MI, Furlan LR, Gimenez DF, Jones JB, Kitajima EW, Laia ML, Leite RP, Nishiyama MY, Rodrigues Neto J, Nociti LA, Norman DJ, Ostroski EH, Pereira HA, Staskawicz BJ, Tezza RI, Ferro JA, Vinatzer BA, et al.: **Novel insights into the genomic basis of citrus canker based on the genome sequences of two strains of *Xanthomonas fuscans* subsp. *aurantifolii*.** *BMC Genomics* 2010, **11**:238.
16. Rouxel T, Balesdent MH: **The stem canker (blackleg) fungus, *Leptosphaeria maculans*, enters the genomic era.** *Mol Plant Pathol* 2005, **6**:225–241.
17. O'Connell RJ, Thon MR, Hacquard S, Amyotte SG, Kleemann J, Torres MF, Damm U, Buiate EA, Epstein L, Alkan N, Altmüller J, Alvarado-Balderrama L, Bauser CA, Becker C, Birren BW, Chen Z, Choi J, Crouch JA, Duvick JP, Farman MA, Gan P, Heiman D, Henrissat B, Howard RJ, Kabbage M, Koch C, Kracher B, Kubo Y, Law AD, Lebrun M-H, et al.: **Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses.** *Nat Genet* 2012, **44**:1060–1065.
18. Amselem J, Cuomo CA, van Kan JAL, Viaud M, Benito EP, Couloux A, Coutinho PM, de Vries RP, Dyer PS, Fillinger S, Fournier E, Gout L, Hahn M, Kohn L, Lapalu N, Plummer KM, Pradier J-M, Quévillon E, Sharon A, Simon A, ten Have A, Tudzynski B, Tudzynski P, Wincker P, Andrew M, Anthouard V, Beever RE, Beffa R, Benoit I, Bouzid O, et al.: **Genomic analysis of the necrotrophic fungal pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*.** *PLoS Genet* 2011, **7**:e1002230.
19. Spanu PD, Abbott JC, Amselem J, Burgis TA, Soanes DM, Stüber K, Ver Loren van Themaat E, Brown JKM, Butcher SA, Gurr SJ, Lebrun M-H, Ridout CJ, Schulze-Lefert P, Talbot NJ, Ahmadinejad N, Ametz C, Barton GR, Benjdia M, Bidzinski P, Bindschedler LV, Both M, Brewer MT, Cadle-Davidson L, Cadle-Davidson MM, Collemare J, Cramer R, Frenkel O, Godfrey D, Harriman J, Hoede C, et al.: **Genome expansion and gene loss in powdery mildew fungi reveal tradeoffs in extreme parasitism.** *Science* 2010, **330**:1543–1546.
20. Duplessis S, Cuomo CA, Lin Y-C, Aerts A, Tisserant E, Veneault-Fourrey C, Joly DL, Hacquard S, Amselem J, Cantarel BL, Chiu R, Coutinho PM, Feau N, Field M, Frey P, Gelhaye E, Goldberg J, Grabherr MG, Kodira CD, Kohler A, Kües U, Lindquist EA, Lucas SM, Mago R, Mauceli E, Morin E, Murat C, Pangilinan JL, Park R, Pearson M, et al.: **Obligate biotrophy features unraveled by the genomic analysis of rust fungi.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011, **108**:9166–9171.
21. As-sadi Falah, Carrere S, Gascuel Q, Hourlier T, Rengel D, Le Paslier M-C, Bordat A, Boniface M-C, Brunel D, Gouzy J, Godiard L, Vincourt P: **Transcriptomic analysis of the interaction between *Helianthus annuus* and its obligate parasite *Plasmopara halstedii* shows single nucleotide polymorphisms in CRN sequences.** *BMC Genomics* 2011, **12**:498.
22. Mestre P, Piron M-C, Merdinoglu D: **Identification of effector genes from the phytopathogenic Oomycete *Plasmopara viticola* through the analysis of gene expression in germinated zoospores.** *Fungal Biol* 2012, **116**:825–835.
23. Rouxel M, Papura D, Nogueira M, Machefer V, Dezette D, Richard-Cervera S, Carrere S, Mestre P, Delmotte F: **Microsatellite markers for characterization of native and introduced populations of *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew.** *Appl Environ Microbiol* 2012, **78**:6337–6340.

24. Abad P, Gouzy J, Aury J-M, Castagnone-Sereno P, Danchin EGJ, Deleury E, Perfus-Barbeoch L, Anthouard V, Artiguenave F, Blok VC, Caillaud M-C, Coutinho PM, Dasilva C, De Luca F, Deau F, Esquibet M, Flutre T, Goldstone JV, Hamamouch N, Hewezi T, Jaillon O, Jubin C, Leonetti P, Magliano M, Maier TR, Markov GV, McVeigh P, Pesole G, Poulain J, Robinson-Rechavi M, et al.: **Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita***. *Nat Biotechnol* 2008, **26**:909–915.
25. International Aphid Genomics Consortium: **Genome sequence of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum***. *PLoS Biol* 2010, **8**:e1000313.
26. Danchin EGJ, Arguel M-J, Campan-Fournier A, Perfus-Barbeoch L, Magliano M, Rosso M-N, Da Rocha M, Da Silva C, Nottet N, Labadie K, Guy J, Artiguenave F, Abad P: **Identification of novel target genes for safer and more specific control of root-knot nematodes from a pan-genome mining**. *PLoS Pathog* 2013, **9**:e1003745.
27. Danchin EGJ, Rosso M-N, Vieira P, de Almeida-Engler J, Coutinho PM, Henrissat B, Abad P: **Multiple lateral gene transfers and duplications have promoted plant parasitism ability in nematodes**. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010, **107**:17651–17656.
28. Peeters N, Carrère S, Anisimova M, Plener L, Cazalé A-C, Genin S: **Repertoire, unified nomenclature and evolution of the Type III effector gene set in the *Ralstonia solanacearum* species complex**. *BMC Genomics* 2013, **14**:859.
29. Vleeshouwers VGAA, Oliver RP: **Effectors as tools in disease resistance breeding against biotrophic, hemibiotrophic, and necrotrophic plant pathogens**. *Mol Plant-Microbe Interact MPMI* 2014, **27**:196–206.
30. Vleeshouwers VGAA, Raffaele S, Vossen JH, Champouret N, Oliva R, Segretin ME, Rietman H, Cano LM, Lokossou A, Kessel G, Pel MA, Kamoun S: **Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors**. *Annu Rev Phytopathol* 2011, **49**:507–531.
31. Oerke E-C: **Crop losses to pests**. *J Agric Sci* 2006, **144**:31–43.
32. Oerke E-C, Dehne H-W: **Safeguarding production—losses in major crops and the role of crop protection**. *Crop Prot* 2004, **23**:275–285.
33. Vleeshouwers, Vivianne G.A.A., Du Juan, Jacobsen Evert, Visser Richard G.F.: **Exploiting pathogen effectors in breeding for disease resistance**. Birnam, UK; 2013.
34. Rietman H, Bijsterbosch G, Cano LM, Lee H-R, Vossen JH, Jacobsen E, Visser RGF, Kamoun S, Vleeshouwers VGAA: **Qualitative and quantitative late blight resistance in the potato cultivar Sargo Mira is determined by the perception of five distinct RXLR effectors**. *Mol Plant-Microbe Interact MPMI* 2012, **25**:910–919.
35. Li G, Huang S, Guo X, Li Y, Yang Y, Guo Z, Kuang H, Rietman H, Bergervoet M, Vleeshouwers VGGA, van der Vossen EAG, Qu D, Visser RGF, Jacobsen E, Vossen JH: **Cloning and characterization of r3b; members of the r3 superfamily of late blight resistance genes show sequence and functional divergence**. *Mol Plant-Microbe Interact MPMI* 2011, **24**:1132–1142.
36. Nekrasov V, Staskawicz B, Weigel D, Jones JDG, Kamoun S: **Targeted mutagenesis in the model plant *Nicotiana benthamiana* using Cas9 RNA-guided endonuclease**. *Nat Biotechnol* 2013, **31**:691–693.

37. Segretin ME, Pais M, Franceschetti M, Chaparro-Garcia A, Bos JJ, Banfield MJ, Kamoun S: **Single amino acid mutations in the potato immune receptor R3a expand response to Phytophthora effectors.** *Mol Plant-Microbe Interact MPMI* 2014.
38. Humphry M, Consonni C, Panstruga R: **mlo-based powdery mildew immunity: silver bullet or simply non-host resistance?.** *Mol Plant Pathol* 2006, **7**:605–610.
39. Van Schie CCN, Takken FLW: **Susceptibility genes 101: how to be a good host.** *Annu Rev Phytopathol* 2014, **52**:551–581.
40. Chen L-Q, Hou B-H, Lalonde S, Takanaga H, Hartung ML, Qu X-Q, Guo W-J, Kim J-G, Underwood W, Chaudhuri B, Chermak D, Antony G, White FF, Somerville SC, Mudgett MB, Frommer WB: **Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens.** *Nature* 2010, **468**:527–532.
41. Mukhtar MS, Carvunis A-R, Dreze M, Epple P, Steinbrenner J, Moore J, Tasan M, Galli M, Hao T, Nishimura MT, Pevzner SJ, Donovan SE, Ghamsari L, Santhanam B, Romero V, Poulin MM, Gebreab F, Gutierrez BJ, Tam S, Monachello D, Boxem M, Harbort CJ, McDonald N, Gai L, Chen H, He Y, European Union Effectoromics Consortium, Vandenhoute J, Roth FP, Hill DE, et al.: **Independently evolved virulence effectors converge onto hubs in a plant immune system network.** *Science* 2011, **333**:596–601.
42. Win J, Kamoun S, Jones AME: **Purification of effector-target protein complexes via transient expression in *Nicotiana benthamiana*.** *Methods Mol Biol Clifton NJ* 2011, **712**:181–194.
43. Wicker E, Lefeuvre P, de Cambiaire J-C, Lemaire C, Poussier S, Prior P: **Contrasting recombination patterns and demographic histories of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* inferred from MLSA.** *ISME J* 2012, **6**:961–974.
44. N'guessan CA, Abo K, Fondio L, Chiroleu F, Lebeau A, Poussier S, Wicker E, Koné D: **So near and yet so far: the specific case of *Ralstonia Solanacearum* populations from Côte d'Ivoire in Africa.** *Phytopathology* 2012, **102**:733–740.
45. Dilmaghani A, Gladioux P, Gout L, Giraud T, Brunner PC, Stachowiak A, Balesdent M-H, Rouxel T: **Migration patterns and changes in population biology associated with the worldwide spread of the oilseed rape pathogen *Leptosphaeria maculans*.** *Mol Ecol* 2012, **21**:2519–2533.
46. Saleh D, Milazzo J, Adreit H, Fournier E, Tharreau D: **South-East Asia is the center of origin, diversity and dispersion of the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*.** *New Phytol* 2014, **201**:1440–1456.
47. Lokossou AA, Rietman H, Wang M, Krenek P, van der Schoot H, Henken B, Hoekstra R, Vleeshouwers VGAA, van der Vossen EAG, Visser RGF, Jacobsen E, Vosman B: **Diversity, distribution, and evolution of *Solanum bulbocastanum* late blight resistance genes.** *Mol Plant-Microbe Interact MPMI* 2010, **23**:1206–1216.
48. Engler C, Marillonnet S: **Golden Gate cloning.** *Methods Mol Biol Clifton NJ* 2014, **1116**:119–131.
49. Karimi M, Depicker A, Hilson P: **Recombinational cloning with plant gateway vectors.** *Plant Physiol* 2007, **145**:1144–1154.
50. Engler C, Youles M, Gruetzner R, Ehnert T-M, Werner S, Jones JDG, Patron NJ, Marillonnet S: **A Golden Gate Modular Cloning Toolbox for Plants.** *ACS Synth Biol* 2014.

51. Weimann M, Grossmann A, Woodsmith J, Özkan Z, Birth P, Meierhofer D, Benlasfer N, Valovka T, Timmermann B, Wanker EE, Sauer S, Stelzl U: **A Y2H-seq approach defines the human protein methyltransferase interactome.** *Nat Methods* 2013, **10**:339–342.
52. Lewis JD, Wan J, Ford R, Gong Y, Fung P, Nahal H, Wang PW, Desveaux D, Guttman DS: **Quantitative Interactor Screening with next-generation Sequencing (QIS-Seq) identifies Arabidopsis thaliana MLO2 as a target of the Pseudomonas syringae type III effector HopZ2.** *BMC Genomics* 2012, **13**:8.