



HAL
open science

Global analysis of the stress signalling pathway by phosphoproteomics reveals a new pathogenic factor in *Botrytis cinerea*

Jaafar Kilani, Marlène M. Davanture, Michel M. Zivy, Sabine Fillinger

► To cite this version:

Jaafar Kilani, Marlène M. Davanture, Michel M. Zivy, Sabine Fillinger. Global analysis of the stress signalling pathway by phosphoproteomics reveals a new pathogenic factor in *Botrytis cinerea*. Journées Jean Chevaugeon 2016 (JJC) - 11èmes Rencontres de Phytopathologie - Mycologie, Société Française de Phytopathologie (SFP), Jan 2016, Aussois, France. p.45. hal-02800126

HAL Id: hal-02800126

<https://hal.inrae.fr/hal-02800126v1>

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.

Journées Jean Chevaugeon 2016



11^{es} Rencontres de Phytopathologie – Mycologie
Aussois – 25-29 janvier 2016

Centre Paul Langevin, CAES du CNRS
Aussois (Savoie) – France



<https://colloque.inra.fr/jjc2016/>

En guise de discours de bienvenue

Le Comité d'Organisation des JJC a le plaisir de vous accueillir pour la 11^e édition de nos rencontres biennales.

Depuis l'origine, les JJC se veulent un lieu convivial d'échanges interculturels, interdisciplinaires et intergénérationnels. En ces temps troublés et incertains, marqués par la confusion des valeurs et la perte des repères, les JJC se doivent de rester un bastion défendant les idéaux de liberté, de partage, de solidarité et d'ouverture d'esprit. Ces valeurs incommensurables, intimement liées à l'éducation, à la culture et au savoir, sont mises à l'honneur lors de chaque édition des JJC. Nous nous devons de continuer à porter haut les valeurs de nos disciplines scientifiques, dans une ambiance détendue et entre pairs, en l'absence de pression sociale et hiérarchique.

Nous souhaitons la bienvenue aux nouveaux participants - le taux de renouvellement par rapport à l'édition précédente est de l'ordre de 70 %. Nous remercions également les 30 % qui redoublent, certains étant des multirécidivistes de très longue date ou nous revenant après une éclipse plus ou moins longue, pour leur constance et leur soutien sans faille aux JJC.

Les doctorants constituent environ 30 % de l'effectif, malgré les sollicitations multiples dont ils sont l'objet. Leur choix de venir aux JJC – et celui de leurs encadrants de les y envoyer - conforte les organisateurs et la SFP dans leur volonté d'offrir aux jeunes chercheurs un tremplin pour leur carrière en construction. Plusieurs participants, ainsi que des membres du Comité Scientifique et des invités d'éditions précédentes, firent leurs première communication publique aux JJC et peuvent ainsi témoigner de l'impact de nos journées.

Nous remercions le Conseil d'Administration de la SFP et le Comité Scientifique des JJC pour la confiance indéfectible qu'ils nous ont témoignée en reconduisant l'équipe organisatrice, ainsi que pour le soutien et les encouragements qu'ils nous ont prodigués dans les moments de doute.

Comme à l'accoutumée, le Conseil Scientifique a réussi, en un temps record, à construire un programme harmonieux, à motiver des co-animateurs de session, et à convier des invités aussi aimables que compétents - pour les amateurs des « indicateurs quantitatifs objectifs », le facteur h cumulé des invités des JJC2016 dépasse 150.

En cette période d'étiage des budgets, nous remercions chaleureusement les organismes qui ont soutenu financièrement l'organisation des JJC2016, avec un salut tout particulier aux personnes qui ont facilité l'obtention des subventions, et qui, de plus, nous font l'honneur d'assister aux JJC :

- INRA – Département SPE (C.Lannou) ;
- Université Paris-Saclay – Labex SPS (M.H. Lebrun) ;
- DuPont de Nemours (M. Mboup) ;
- Société Botanique de France (M.A. Selosse).

La délicieuse affiche des JJC2016 est née des crayons inspirés de Mélanie Roy.

Pour conclure, un grand merci à Christa Balzer et à l'ensemble du personnel du CAES, qui font tout leur possible, et parfois plus, pour que notre séjour à Aussois soit des plus confortables, des plus agréables, et des plus réussis.

Ivan Sache et Vincent Gitton

Un casting de rêve

Comité d'organisation

Ivan Sache	AgroParisTech Paris/Grignon
Vincent Gitton	INRA Grignon

Comité scientifique

Agnès Calonnec	INRA Bordeaux
Sébastien Duplessis	INRA Nancy
Élisabeth Fournier	INRA Montpellier
Pascal Frey	INRA Nancy
Élodie Gaulin	Université Paul Sabatier Toulouse
Harald Keller	INRA Sophia Antipolis
Franck Panabières	INRA Sophia Antipolis
Ivan Sache	AgroParisTech Paris/Grignon
Marc-André Selosse	MNHN Paris
Didier Tharreau	CIRAD Montpellier

Animateurs et co-animateurs de sessions

Génétique et évolution	Élisabeth Fournier et Stéphane De Mita (INRA Nancy)
Taxonomie	Marc-André Selosse et Mélanie Roy (Université Paul Sabatier)
Épidémiologie	Agnès Calonnec et Benoît Marçais (INRA Nancy)
Interactions moléculaires	Élodie Gaulin et Harald Keller
Génomique	Sébastien Duplessis et Franck Panabières

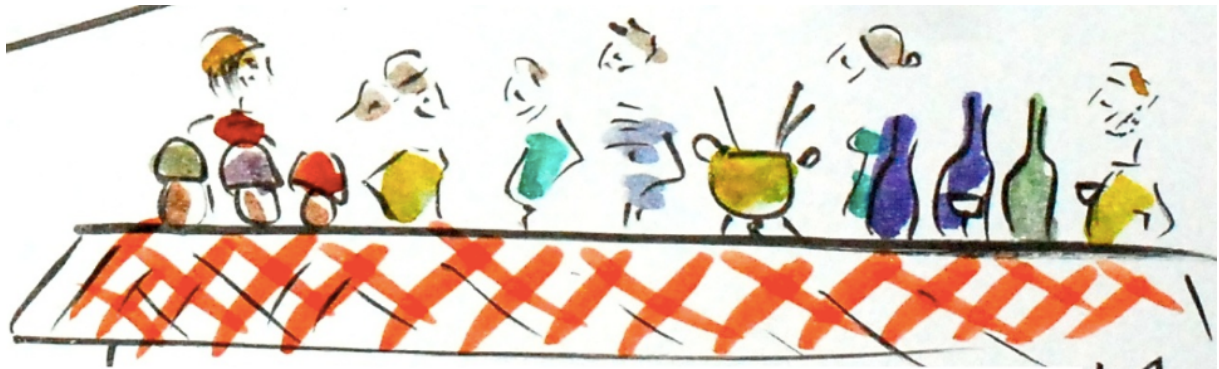
Invités

Génétique et évolution	Daniel Croll (ETH Zurich)
Taxonomie	Paola Bonfante (Université de Turin)
Épidémiologie	David Makowski (INRA Grignon)
Interactions moléculaires	Pietro Spanu (Imperial College)
Génomique des champignons	Joseph Spatafora (Oregon State University)

La liste complète des participants, avec leur affiliation et adresse, figure en fin de ce recueil.

Journées Jean Chevaugéon 2016

PROGRAMME



11^{es} Journées Jean Chevaugéon

25 – 29 janvier 2016 - Centre Paul Langevin, Aussois (France)

Lundi 25 janvier – après-midi

16h00 Accueil des participants
19h00 Apéritif de bienvenue
20h00 Dîner (buffet froid)

Mardi 26 janvier - matin

9h00-9h30 Ouverture des JJC par le Comité d'Organisation et le Secrétaire de la SFP

Session 1 : GÉNÉTIQUE ET ÉVOLUTION DES POPULATIONS

Animateurs **Élisabeth Fournier** (INRA, UMR BGPI, Montpellier)
Stéphane De Mita (INRA, UMR IAM, Nancy)

9h30-10h00 Conférencier invité **Daniel Croll** (ETH Zürich, Suisse)
How genomic plasticity contributes to virulence evolution in fungal plant pathogens

10h00-10h20 **Pascal Frey** (INRA, UMR IAM, Nancy)
Adaptation of poplar rust to the poplar varietal landscape

10h20-10h50 Pause café

10h50-11h10 **Johann Confais** (INRA, UMR BIOGER, Grignon)
Spécialisation d'hôte et structuration des populations de *Zymoseptoria tritici*

11h10-11h30 **Gaëlle Laloi** (INRA, UMR IRHS, Angers)
Quel est l'intérêt de cumuler des QTLs de résistance ?

11h30-11h50 **Seynabou Séne** (IRD/UCAD/ISRA, Dakar, Sénégal)
Dissémination pantropicale de *Scleroderma bermudense* via les graines de sa plante hôte *Coccoloba uvifera*.

11h50-12h10 **Elisa Taschen** (CNRS, UMR CEFE, Montpellier)
Structure génétique des populations de *Tuber melanosporum* en truffières spontanées et plantées : truffes en quête de père

12h10-12h30 **Présentation des posters des sessions** Génétique et évolution des populations et Taxonomie, écologie, évolution

12h30 Déjeuner

Mardi 26 janvier - après-midi

16h00-17h30 **Pause goûter et session posters** Génétique et évolution des populations et Taxonomie, écologie, évolution

Session 2 : TAXONOMIE, ÉCOLOGIE, ÉVOLUTION

Animateurs **Marc-André Selosse** (MNHN, UMR ISYEB, Paris)
Mélanie Roy (Université Paul Sabatier, UMR IDB, Toulouse)

17h30-18h00 Conférencière invitée **Paola Bonfante** (Université de Turin, Italie)
Plant fungal communication in arbuscular mycorrhizas: do you speak plantish or fungish?

18h00-18h20 **Dirk Redecker** (Université de Bourgogne, UMR Agroécologie, Dijon)
Drivers of arbuscular mycorrhizal fungal communities along a European transect

18h20-18h40 **Mélanie Roy** (Université Paul Sabatier, UMR EDB, Toulouse)
Diversité et distribution des champignons ectomycorhiziens au Brésil et en Guyane

18h40-19h00 **Mélanie Nagati** (Université Paul Sabatier, UMR EDB, Toulouse)
La Corse : un point chaud de diversité pour les symbiotes des aulnes ?

19h00-19h20 **Fatima Maghnia** (CIRAD, UMR LSTM, Montpellier)
Deciphering fungal bio-indicators of Moroccan cork oak forest functioning

19h30 Dîner

Mercredi 27 janvier – matin**Session 2 : TAXONOMIE, ÉCOLOGIE, ÉVOLUTION (suite)**

8h30-8h50 **Babacar Thioye** (IRD/UCAD/ISRA, Dakar)
Étude des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules associées au jujubier sur le tracé du projet Grande Muraille Verte au Sénégal : impact de l'inoculation, de la fertilisation phosphatée et de la provenance de l'hôte

8h50-9h10 **Renaud Ios** (ANSES LSV, Malzéville)
Development of high-throughput sequencing (HTS) based sentinel tools for the detection and early warning of airborne fungal pathogens

Session 3 : ÉPIDÉMIOLOGIE

	<u>Animateurs</u> Agnès Calonnec (INRA, UMR SAVE, Bordeaux) Benoît Marçais (INRA, UMR IAM, Nancy)
9h10-9h40	<u>Conférencier invité</u> David Makowski (INRA, UMR Agronomie, Grignon) Synthèse d'informations et analyse du poids des preuves en pathologie végétale
9h40-10h00	Frédéric Hamelin (Agrocampus Ouest, UMR IGEPP, Rennes) Temporal niche differentiation of parasites sharing the same plant-host: oak powdery mildew as case study
10h00-10h20	François Bonnot (CIRAD, UMR BGPI, Montpellier) Développement et calibration d'un modèle de simulation hôte-pathogène : le cas de la cercosporiose noire du bananier
10h20-10h50	Pause café
10h50-11h10	Agnès Calonnec (INRA, UMR SAVE, Bordeaux) A sensitivity analysis of a grapevine/powdery mildew model to highlight the interactions between plant growth, pathogen, crop management and climate
11h10-11h30	Tiphaine Vidal (INRA, UMR ECOSYS, Grignon) Associer des variétés de blé différant fortement par leur architecture: une piste d'amélioration de l'efficacité des associations variétales dans la réduction de la septoriose du blé ?
11h30-11h50	Claudine Pasco (INRA, UMR IGEPP, Rennes) L'architecture de la pomme de terre peut-elle aider dans la lutte contre le mildiou ?
11h50-12h10	Marie Grosdidier (INRA, UMR IAM, Nancy) Étude de la dissémination aérienne d'un agent pathogène : <i>Hymenoscyphus fraxineus</i>
12h10-12h30	Présentation des posters de la session Épidémiologie
12h30	Déjeuner

Mercredi 27 janvier - après-midi

16h00-17h30 **Pause goûter et session posters** Épidémiologie

Session 3 : ÉPIDÉMIOLOGIE (suite)

17h30-17h50 **Christel Leyronas** (*UR Pathologie Végétale, Avignon*)
Scleroleg, un projet à l'interface entre le labo et le terrain

17h50-18h10 **Timeri Atuahiva** (*EVT, Raiatea, Polynésie Française*)
La fusariose de la vanille : identification, éléments d'étiologie et étude de la dynamique épidémique dans une zone de production polynésienne, en comparaison avec d'autres pathologies, selon un suivi de cohorte

18h10-18h30 **Jean-Pierre Thermo** (*INRA, UMR AGAP, San Giuliano*)
L'incidence du Phytophthora sur le pathosystème des agrumes

Session 4 : INTERACTIONS MOLÉCULAIRES 1

Animateurs **Élodie Gaulin** (UPS, LRSV, Toulouse)
Harald Keller (INRA, UMR ISA, Sophia Antipolis)

18h30-19h00 Conférencier invité **Pietro Spanu** (Imperial College, Royaume-Uni)
The powdery mildew RNase-like effectors: a useful tool to unlock plant immunity?

19h00-19h20 **Cécile Lorrain** (*INRA, UMR IAM, Nancy*)
Analyse fonctionnelle d'effecteurs candidats de *Melampsora larici-populina*

19h30 Dîner (fondue savoyarde) et soirée dansante

Jeudi 28 janvier – matin**Session 4 : INTERACTIONS MOLÉCULAIRES 1 (suite)**

9h00-9h20 **Laurent Kamel** (*UPS, UMR LRSV, Toulouse*)
Involvement of secreted proteins in arbuscular mycorrhizal symbiosis establishment

9h20-9h40 **Nicolas Valette** (*Université de Lorraine, UMR IAM, Nancy*)
Characterization of small proteins secreted by lignolytic fungi

- 9h40-10h00** **Yohann Petit** (INRA, UMR BIOGER, Grignon)
A two genes – for – one gene interaction between *Leptosphaeria maculans* and *Brassica napus*
- 10h00-10h20** **Jaafar Kilani** (INRA, UMR BIOGER, Grignon)
Global analysis of the stress signalling pathway by phosphoproteomics reveals a new pathogenic factor in *Botrytis cinerea*
- 10h20-10h50 Pause café
- 10h50-11h10** **Imane Ben Salah** (Université Qadi Ayyad, Guéliz, Maroc)
Induction du métabolisme phénolique chez l'olivier en réponse à l'inoculation par le *Verticillium dahliae*
- 11h10-11h30** **Julia Courtial** (Université d'Angers, UMR IRHS, Angers)
Lien entre agressivité et composition des exsudats chez *Alternaria dauci*, agent causal de la brûlure foliaire de la carotte
- 11h30-11h50** **Anissa Lounès-Hadj Sahraoui** (ULCO, UCEIV, Calais)
La symbiose mycorhizienne au service de la remédiation et de la gestion des sols pollués
- 11h50-12h10** **Présentation des posters des sessions** Interactions moléculaires et Génomique des champignons
- 12h30 Déjeuner

Jeudi 28 janvier – après-midi

- 16h00-17h30** **Pause goûter et sessions posters** Interactions moléculaires et Génomique des champignons

Session 5 : GÉNOMIQUE DES CHAMPIGNONS

- Animateurs **Sébastien Duplessis** (INRA, UMR IAM, Nancy)
Franck Panabières (INRA, UMR ISA, Sophia Antipolis)
- 17h30-18h00** Conférencier invité **Joseph W. Spatafora** (Oregon State University, États-Unis)
1000 Fungal Genome Project: assembling the fungal tree of life with genome-scale data
- 18h00-18h20** **Sébastien Duplessis** (INRA, UMR IAM, Nancy)
Update on *Melampsora larici-populina* genomics

- 18h20-18h40** **Sylvain Lecomte** (*Université de Picardie, UR BIOPI, Amiens*)
Approche globale de la tolérance du Lin, *Linum usitatissimum*, à l'agent pathogène *Verticillium dahliae*, par transcriptomique et métabolomique
- 18h40-19h00** **Martha Nigg** (*Université Laval, IBIS, Québec, Canada*)
De levure à mycélium : suivi des modifications de l'expression génique chez *Ophiostoma novo-ulmi*, agent de la graphiose de l'orme
- 19h00-19h20** **Antoine Porquier** (*INRA, UMR BIOGER, Grignon*)
Régulation spécifique des clusters botrydial et acide botcinique chez *Botrytis cinerea*
- 19h30 Dîner (pierrade)

Vendredi 29 janvier - matin

Session 6 : INTERACTIONS MOLÉCULAIRES 2

Animateurs **Élodie Gaulin** (UPS, LRSV, Toulouse)
Harald Keller (INRA, UMR ISA, Sophia Antipolis)

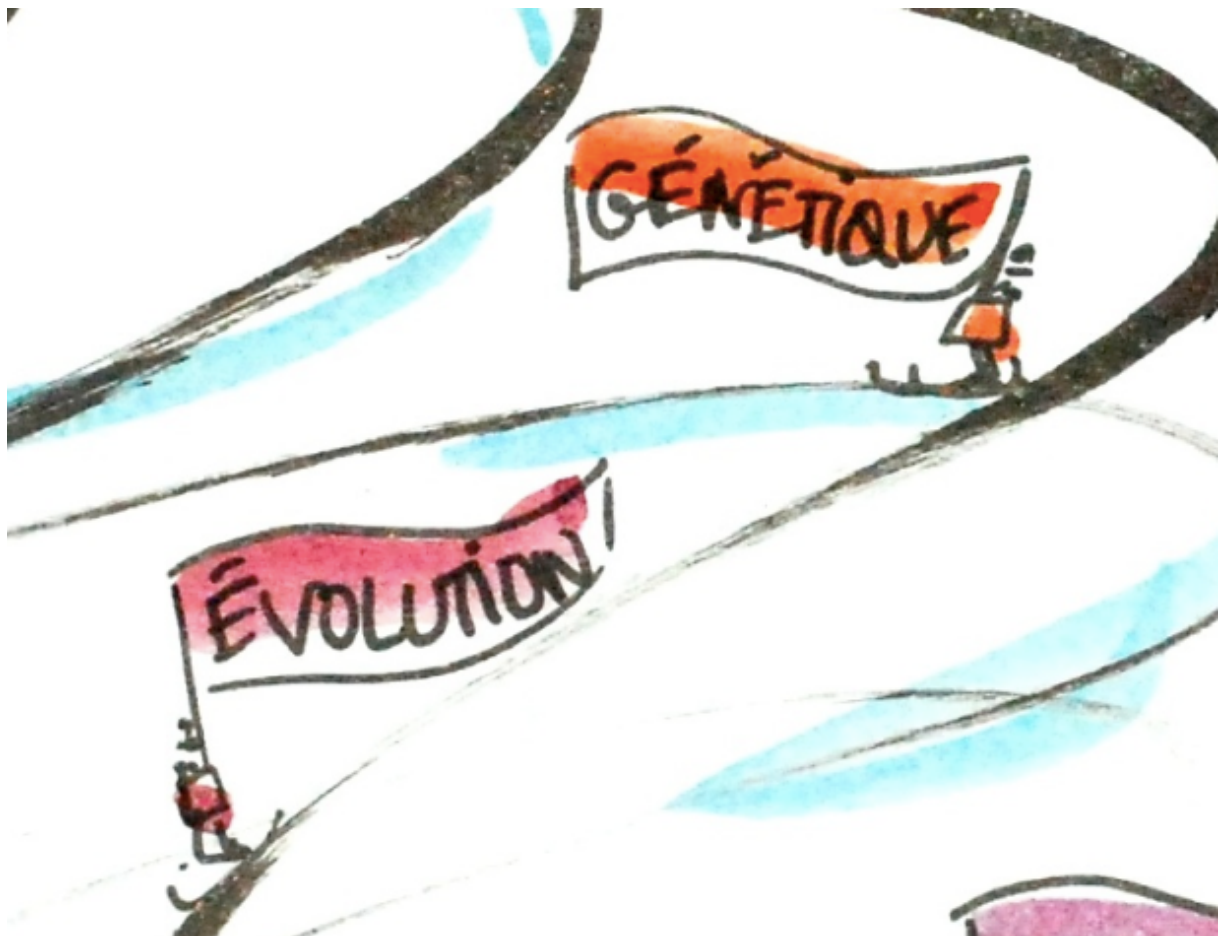
- 9h00-9h20** **Marc-Henri Lebrun** (*CNRS, UMR BIOGER, Grignon*)
Wheat Effector Assisted Breeding for resistance to fungal pathogens (WEAB)
- 9h20-9h40** **Michel Meyer** (*INRA, UMR Bioger, Grignon*)
Influence de facteurs biotiques et abiotiques sur l'expression d'effecteurs du champignon *Leptosphaeria maculans*
- 9h40-10h00** **Laurence Godiard** (*INRA, UMR LIPM, Toulouse*)
Exploitation of the knowledge on oomycete effectors to drive the discovery of durable disease resistance in cultivated plants: the case of *Plasmopara halstedii*, the agent of sunflower downy mildew
- 10h00-10h20** **Élodie Gaulin** (*UPS, UMR LRSV, Toulouse*)
Causer des dommages à l'ADN végétal : une nouvelle stratégie d'infection décryptée chez l'oomycète racinaire *Aphanomyces euteiches*
- 10h20-10h50** **Remise des prix de la meilleure communication orale et du meilleur poster des doctorants**
Clôture des JJC par le Comité d'Organisation et le Secrétaire de la SFP
- 12h00 Déjeuner / départ des participants

Journées Jean Chevaugeon 2016

RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS ORALES

Communications orales

Session 1



How genomic plasticity contributes to virulence evolution in fungal plant pathogens

D. Croll

ETH Zürich, Suisse

Plant pathogens show extraordinary adaptive potential to overcome host resistance, evolve tolerance to fungicides and adapt to new environments. Frequent sexual reproduction, the capacity to disperse and large population sizes are thought to be the main drivers of rapid evolution. However, how adaptive genetic variation is generated in the genome and how this variation contributes to virulence is poorly understood. Our work aims to link genomic plasticity to virulence evolution in populations of *Zymoseptoria tritici*, the causal agent of Septoria tritici blotch (STB) on wheat. A major challenge in understanding mechanisms generating genomic plasticity is the lack of complete genome assemblies. Hence, we assembled the genome of an isolate from a Swiss wheat field complementing the previously available reference genome. We used long-read technology and high-density genetic maps to produce accurate and complete chromosomal sequences. Comparative genomics analyses showed that core chromosomes of the newly assembled genome harbored extensive orphan regions not found in the reference genome. A subset of genes in orphan regions carried signatures indicative of a role in virulence. To understand the role genetic variation plays in virulence evolution at the population level, we performed a genome-wide association study (GWAS) of 106 whole-genome sequenced isolates. Localization of GWAS hits showed that differences in virulence were most likely caused by non-synonymous substitutions in genes encoding cell wall-degrading enzymes and deletion polymorphisms affecting a candidate avirulence gene. In conclusion, chromosomal plasticity and frequent recombination generated highly diverse pathogen populations capable to rapidly gain or lose virulence loci in response to selection pressure imposed by the host.

Adaptation of poplar rust to the poplar varietal landscape

K.J. Hayden^{1,2,3}, B. Fabre^{1,2}, F. Halkett^{1,2}, P. Frey^{1,2}

¹INRA, Université de Lorraine, UMR 1136 Interactions Arbres – Microorganismes (IAM), F-54280 Champenoux, France

²Université de Lorraine, UMR 1136 Interactions Arbres – Microorganismes (IAM), F-54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

³Current address, Royal Botanic Garden Edinburgh, 20A Inverleith Row, Edinburgh EH3 5LR, United Kingdom

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, such as R7 resistance, with pathogen populations swamped by virulent genotypes. 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 virulent 7 sweep, with regions heavily planted with R7 cultivars continuing to be dominated by the corresponding virulence, along with virulences that “hitchhiked” across the landscape during the original sweep. These genotypes persist, despite a reduction in planting of R7, and a near-absence of resistances corresponding to the hitchhikers. In addition, the beginnings of a new sweep are emerging in regions in which a recently overcome resistance (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. Comparing traits across isolates collected before and after the landscape-wide sweep of the virulent 7 rust lineage, we demonstrate rapid evolution of fungal aggressiveness traits in response to the quantitative resistance traits of the most widely deployed R7 cultivar.

Spécialisation d'hôte et structuration des populations de *Zymoseptoria tritici*

J. Confais¹, M. Massot², A. Ducasse¹, R. Valade², L. Gout³

¹INRA, UMR1290 BIOGER, Campus AgroParisTech, 78850 Thiverval-Grignon, France

³Arvalis, Laboratoire de Pathologie Végétale, Campus AgroParisTech, 78850 Thiverval-Grignon, France

³AgroParisTech, UMR1290 BIOGER, Campus AgroParisTech, 78850 Thiverval-Grignon, France

La septoriose, causée par le champignon ascomycète *Zymoseptoria tritici*, se développe aussi bien sur le blé tendre (*Triticum aestivum*) que le blé dur (*Triticum turgidum*). Les populations se développant sur les cultures de blé dur restent cependant rarement étudiées et leur éventuelle spécialisation sur cette plante hôte est peu caractérisée. Des expériences d'inoculations croisées avec quelques souches sur les deux espèces de blé ont déjà été publiées et ont permis de distinguer trois classes de souches : 1) des souches spécialisées sur le blé dur qui ne sont pas pathogènes du blé tendre, 2) des souches spécialisées sur le blé tendre qui ne sont pas pathogènes du blé dur, et 3) des souches généralistes, capables d'infecter les deux espèces de blé. Caractériser la base génétique de cette spécialisation d'hôte permettrait d'améliorer notre compréhension de l'émergence de nouvelles maladies de plantes par saut d'hôte, ce qui représente une question fondamentale en écologie évolutive et un enjeu majeur pour la gestion de la santé des plantes. La diversité du paysage agricole français nous offre un dispositif expérimental idéal pour étudier la spécialisation d'hôte de *Z. tritici* sur des variétés de blé tendre ou de blé dur. En effet, il existe en France des grands bassins de production spécialisés dans la culture de blé tendre ou de blé dur, tout comme des régions où les deux espèces de blé sont cultivées. À partir d'un large échantillonnage dans ces régions sur des variétés de blé tendre et/ou blé dur, nos objectifs étaient de préciser à une échelle populationnelle le degré de spécialisation à l'hôte de *Z. tritici* et l'effet de cette spécialisation sur la structure génétique des populations.

Quel est l'intérêt de cumuler des QTLs de résistance ?

G. Laloi, C.E. Durel, B. Le Cam, E. Vergne-Gaillard, V. Caffier

¹Institut de Recherche en Horticulture et Semences - UMR 1345, INRA, SFR 4207 QuaSaV, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé cedex, France

La lutte génétique contre les maladies des plantes repose sur l'utilisation de résistances qualitatives et quantitatives, les premières ont la réputation d'être peu durables, les secondes de s'éroder au cours du temps - également ! Pour augmenter l'efficacité et la durabilité de la résistance quantitative, nous proposons de combiner des facteurs de résistance (QTLs) diversifiés contrôlant des voies métaboliques différentes afin de contraindre l'agent pathogène à un compromis évolutif. Pour tester cette hypothèse, nous avons évalué chez le pommier l'effet du pyramidage de trois QTLs de résistance à *Venturia inaequalis* (T1, F11 et F17). Par des approches de phénotypage macroscopique et microscopique ainsi que des analyses transcriptomiques, nous avons (1) testé l'efficacité du pyramidage des trois QTLs sur le développement de la maladie vis-à-vis de 10 souches de *V. inaequalis*, (2) recherché à quel(s) stade(s) les QTLs affectent le cycle infectieux du champignon puis (3) identifié les voies métaboliques sous-jacentes à chacun des QTLs. Nos résultats montrent un meilleur contrôle de la maladie lorsque les trois QTLs sont pyramidés. Le QTL T1 agit plutôt au stade de pénétration du champignon et déclenche des réactions hypersensibles tandis que l'association des QTLs F11 et F17 agirait davantage entre la pénétration et la production de spores du champignon. Le pyramidage des trois QTLs combine les effets du QTL T1 seul et des QTLs F11F17. Les voies métaboliques activées chez le pommier à la suite de l'infection semblent différentes en fonction du QTL présent ce qui suggère que l'efficacité du pyramidage pourrait provenir d'une synergie entre ces voies métaboliques. L'analyse fine des données microarrays pangénomiques est en cours. Le pyramidage de ces trois QTLs s'avère efficace en conditions contrôlées, l'évolution de la maladie en verger est suivie depuis 2012 afin d'en déterminer la durabilité.

Dissémination pantropicale de *Scleroderma bermudense* via les graines de sa plante hôte *C. uvifera*

S. Séné¹, M.A. Selosse², M. Forget², A. Geoffroy², J. Lambourdière², E. Rivera-Ocasio³, H. Kodja⁴, M. Thiao¹, K. Nara⁵, A. Gamby Diédhiou¹, S. Ndao Sylla¹, A. Bâ^{6,7}

¹Laboratoire Commun de Microbiologie, IRD/UCAD/ISRA, BP 1386 Dakar, Sénégal

²UMR 7205 CNRS ISYEB Muséum national d'Histoire naturelle, Département Systématique et Evolution, CP 50, 45 rue Buffon 75005 Paris, France

³Department of Biology, University of Puerto Rico-Bayamon, Parque Industrial Minillas Carr 174, Bayamón Puerto Rico, 00959-1911

⁴Université de La Réunion, 15 Av. R. Cassin CS 92003. 97744 Saint-Denis Cedex 9 Réunion – France

⁵Graduate School of Frontier Science, The University of Tokyo 5-1-5 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-8563, Japon

⁶Laboratoire de Biologie et Physiologie Végétales, Faculté des Sciences Exactes et Naturelles, Université des Antilles, BP 592, 97159, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, France

⁷Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes, UMR113 INRA/Agro-M/CIRAD/IRD/UM2-TA10/J, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier cedex 5, France

Coccoloba uvifera est une polygonacée arborescente native d'Amérique tropicale formant des ectomycorhizes (ECMs) avec diverses espèces dont *Scleroderma bermudense*. Elle a été introduite dans plusieurs régions tropicales, dont le Sénégal où son cortège ectomycorhizien est restreint à une espèce ectomycorhizienne, *S. bermudense*. Deux questions se posent : (i) *C. uvifera* présente-t-elle la même association dans d'autres zones d'introduction (Guyane française, Brésil, Sénégal, La Réunion, Japon et Malaisie) ? (ii) Les individus de *S. bermudense* recrutés sont-ils co-introduits, ou bien d'origine locale ? Pour répondre à ces questions nous avons : (i) séquencé l'ITS de sporophores et d'ECMs provenant des six régions d'introduction citées précédemment et de trois régions d'origine (Guadeloupe, Martinique et Porto Rico); (ii) effectué, par la suite, un génotypage des échantillons identifiés au *S. bermudense* avec six marqueurs microsatellites variables au niveau intraspécifique. Nos travaux de germination en sol stérile et de microscopie électronique à balayage suggèrent que les graines de *C. uvifera* collectées *in situ* agglomèrent (sans doute avant de sécher) des spores identifiées à *S. bermudense* par séquençage de l'ITS. Le *S. bermudense* associé à *C. uvifera* en zone d'origine est identique à celui échantillonné en Guyane, au Sénégal et à La Réunion. Cependant, au Brésil, au Japon et en Malaisie, une autre espèce de *Scleroderma* (non décrite) est associée au *C. uvifera*. L'analyse par marqueurs microsatellites montre un faible isolement par la distance entre les populations de *S. bermudense* des régions d'origine et celles des régions d'introduction, ainsi qu'un faible effet fondateur suggérant une introduction récente. Un flux élevé de gènes est noté au sein de chaque région, suggérant une large dispersion des spores de *S. bermudense*. Une différenciation génétique marquée ($F_{ST} = 0,27$) est observée entre les populations de *S. bermudense* du Sénégal et celles de La Réunion, suggérant des introductions indépendantes dans ces deux régions. Les génets de *S. bermudense* identifiés dans les régions d'introduction ont donc probablement été co-introduits avec *C. uvifera*, sans doute par les graines sèches.

Structure génétique des populations de *Tuber melanosporum* en truffières spontanées et plantées : truffes en quête de pères

E. Taschen^{1,2}, F. Rousset³, M. Sauve¹, L. Benoit¹, M.P. Dubois¹, F. Richard¹, M.A. Selosse²

¹CEFE UMR 5175, CNRS - Université de Montpellier - Université Paul-Valéry Montpellier - EPHE – 1919, Route de Mende, 34293 Montpellier, France

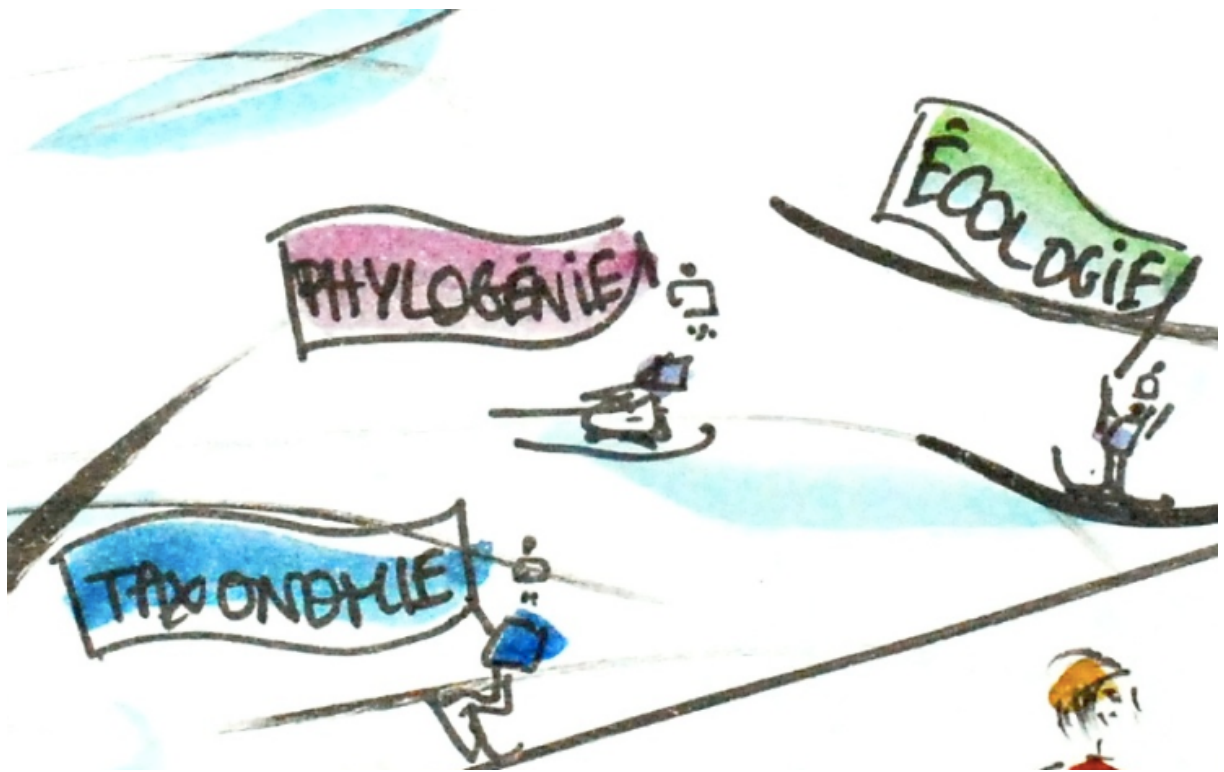
²Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité (ISYEB - UMR 7205 – CNRS, MNHN, UPMC, EPHE), Muséum national d'Histoire naturelle, Sorbonne Universités, 57 rue Cuvier (CP50), 75005, Paris, France

³Institut des Sciences de l'Évolution, Université de Montpellier, CNRS, IRD, EPHE CC 065, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier cedex 05, France.

La truffe noire *Tuber melanosporum* est un champignon ectomycorhizien ascomycète à fructification hypogée. Sa production actuelle provient à 80 % de plantations d'arbres inoculés. Cependant, la production reste souvent aléatoire et nos connaissances sur la biologie de la truffe restent fragmentaires. La fructification (ou ascocarpe) de ce champignon haploïde résulte de la fécondation entre un génét maternel, qui forme la chair de l'ascocarpe, et un génét paternel dont le génotype peut être déduit du génome des spores formées à l'intérieur de l'ascocarpe. Alors que les génets maternels forment localement des ectomycorhizes, les individus paternels n'ont jamais été observés et leur provenance reste inconnue. Notre étude cherche à mieux comprendre 1) la structure des populations, 2) la nature de l'appariement et la provenance des gamètes mâles, et, sur ce dernier point, 3) la possibilité d'un réservoir de pères sous forme de mycélium endophyte de plantes non-ectomycorhiziennes. Enfin, en comparant les populations en truffières spontanées et plantées, nous avons recherché de possibles effets génétiques de la proto-domestication en cours à l'échelle du Languedoc-Roussillon. L'analyse de 1453 échantillons (ascocarpes, ectomycorhizes et racines) par 13 marqueurs microsatellites et par typage sexuel a permis de confirmer 1) un fort patron d'isolement par la distance à l'échelle de l'hectare, 2) un fort taux de consanguinité entre les génets qui s'apparient pour la fécondation, et 3) la présence de *T. melanosporum* dans les racines de plantes non-ectomycorhiziennes, où, toutefois, (4) seuls les génets maternels sont retrouvés. Alors que les génets maternels sont métriques et peuvent persister d'une saison à l'autre, les génets paternels sont petits et fugaces dans le temps. Pour rendre compte de la consanguinité et de leur indétectabilité sur les racines des plantes, nous proposons qu'ils soient issus de germinations de spores de la banque sporale du sol, à survie courte. La dispersion de ce champignon par les animaux qui consomment l'ascocarpe disperse en effet de façon groupée des spores issues d'un même ascocarpe. Ceci peut, au moins en partie, expliquer la forte structuration spatiale observée. Seule différence notable entre populations spontanées et plantées, les appariements en plantation sont moins consanguins, probablement en raison des pratiques courantes de réensemencement par dispersion de truffes broyées sur les truffières. En Languedoc-Roussillon, aucune différence de diversité génétique n'a pu être notée entre compartiments sauvage et proto-domestiqué, ce qui suggère une faible incidence du processus de domestication à cette échelle.

Communications orales

Session 2



Plant fungal communication in arbuscular mycorrhizas: do you speak plantish or fungish?

P. Bonfante, M. Giovannetti, V. Fiorilli, M. Novero, A. Genre
Department of Life Science and System Biology, University of Torino, Italy

The arbuscular mycorrhizal symbiosis that involves most plants and Glomeromycota fungi is the result of a complex exchange of molecular information, which commences before the partners are in physical contact. In the dark of the rhizosphere, plants release soluble factors, including strigolactones that activate both the metabolism and branching of the fungal partners. On the other hand, fungi use chitin-related molecules that trigger the signaling transduction pathways that are required for switching the plant cells into symbiotic mode. The aim of the presentation is to describe some of our recent findings regarding the fungal molecules involved in rhizospheric conversation, the way in which they are stimulated by the host strigolactones and how these plant molecules have an impact on the fungal transcriptome. On the other hand, the host plant responds to fungal presence by activating multiple pathways, including those which regulate strigolactone synthesis. Special attention will be given to responses in rice. We conclude that structurally similar signaling molecules may have different meanings, which are understood by both partners depending on the context and the specificity of the interaction.

Drivers of arbuscular mycorrhizal fungal communities along a European transect

M.L. Bouffaud^{1,2}, D. van Tuinen¹, D. Wipf³, **D. Redecker**³

¹INRA, UMR 1347 Agroécologie, 17 rue Sully, 21000 Dijon, France

²Present address: Department of Soil Ecology, UFZ-Helmholtz Centre for Environmental Research, D-06120 Halle (Saale), Germany; German Centre for Integrative Biodiversity Research (iDiv) Halle-Jena-Leipzig, D-04103 Leipzig, Germany

³Université de Bourgogne Franche-Comté, UMR 1347 Agroécologie, 17 rue Sully, 21000 Dijon, France

Arbuscular mycorrhiza is an extremely widespread mutualistic symbiosis between plants and fungi from the Glomeromycota phylum. In their interaction with at least 65% of land plants including many crops, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are involved in many important ecosystem functions and processes, including nutrient cycling and plant productivity. However, most studies addressing glomeromycotan community structure have been conducted at relatively small scale, with only a few ones analyzing AMF diversity at the regional scale or above, therefore the understanding of the geographic distribution of these fungi remains limited. Some AMF taxa seem to be surprisingly widespread and many cannot as yet be directly linked to a certain set of environmental conditions. Our study used the soil sampling scheme of the European project ECOFINDERS. In this project, the biodiversity of a large range of different groups of soil microorganisms was analyzed to assess soil functioning and to define indicators of soil health across Europe. The objective of our study was (i) to characterize the diversity of glomeromycotan fungi on the European scale, (ii) to define environmental factors influencing it, and (iii) to determine if a geographic structure exists for AMF. We therefore used pyrosequencing of the rDNA Internal Transcribed Spacer region to study glomeromycotan community structure in a transect of 54 samples. Environmental factors explained a large part of AMF community structure. We identified indicator species for these parameters, as well as generalists occurring across a wide range of samples, and assessed the influence of geography on community structure.

Diversité et distribution des champignons ectomycorhiziens au Brésil et en Guyane

M. Roy¹, H. Schimann², R. Braga Neto³, L. Fernandez¹, J. Hackel¹, S. Manzi¹, R.A. Elias da Silva⁴, J. Duque⁴, D. Frame⁵, C. Decock⁶, M.A. Neves⁴

¹Université Paul Sabatier – CNRS, Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, UMR5174, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex, France

²INRA - UMR Écologie des Forêts de Guyane, Campus agronomique, BP 316, F-97379 Kourou cedex, France

³INPA, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. André Araujo 2936, Manaus, AM, CEP: 69060-000, Brésil

⁴MICOLAB, Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Botânica, Trindade, Florianópolis, SC, CEP: 88040-900, Brésil

⁵Herbier IRD de Guyane, UMR AMAP, Route de Montabo, BP165, 97323 Cayenne

⁶Mycothèque de l'Université catholique de Louvain (MUCL, BCCMTM), Earth and Life Institute, Microbiology (ELIM), Université catholique de Louvain (UCL), 1348, Louvain-la-Neuve, Belgique

Les champignons ectomycorhiziens sont réputés rares en Amazonie, au delà des forêts monodominantes du plateau des Guyanes. En effet, l'observation des mycorhizes sur des sols de terra-firme n'a révélé que peu d'hôtes potentiels, et des communautés relativement pauvres et spécifiques de champignons. Cependant, la richesse des collections faites par Rolf Singer dans les années 70 sur les sables blancs du Rio Negro souligne que certains habitats restent favorables aux champignons ectomycorhiziens. Plus récemment, de nouvelles espèces de Russules et d'Amanites ont été décrites au Brésil, sur la côte, et la chanterelle de Guyane a été décrite à la fois de Guyane, mais aussi de Colombie, et du Brésil. Pour illustrer cette diversité, et l'extension de l'aire de distribution des ectomycorhiziens en Amazonie, nous avons rassemblé toutes les mentions déposées dans des herbiers brésiliens. Par ailleurs, nous avons procédé à des inventaires sur des zones de sables blancs au Brésil, et en Guyane. Enfin, sur un site en Guyane, nous avons comparé les cortèges mycorhiziens de Polygonaceae et de Nyctaginaceae, et évalué leur degré de partage localement, par le biais de séquençage haut-débit à partir des mycorhizes. Toutes ces données nous montrent qu'il y a effectivement des ectomycorhiziens dans la plupart des écosystèmes tropicaux au Brésil, et que les communautés de champignons sont assez diverses et spécifiques dans ces forêts non-monodominantes.

La Corse : un point chaud de diversité pour les symbiotes des aulnes ?

M. Nagati¹, M. Roy¹, R. Gareil¹, S. Manzi¹, H. Gryta¹, P.A. Moreau², M. Gardes¹

¹Université Paul Sabatier – CNRS, Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, UMR5174, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex, France

²Inra - Université Lille Nord de France, UFR Pharmacie, Laboratoire des Sciences Végétales et Fongiques, EA Griiot 4481, BP83, Lille cedex F-59006, France

The distribution of ectomycorrhizal fungi, which depend on their host for their organic nutrition, is supposed to be strongly linked with their host distribution. The isolation of host populations, or host migrations, may have therefore strongly influenced ectomycorrhizal fungi distribution, especially the more specific ones. The genus *Alnus* is known to host low diverse and rather specific ectomycorrhizal communities. Aside from this, *Alnus* is a genus widespread in the North temperate zone, whose distribution has been strongly modified by recent quaternary glaciations. In Europe, the different *Alnus* species have followed distinct migration routes, *Alnus glutinosa* has for example been isolated in southern refugia before recolonizing the whole Europe, while *Alnus cordata* has been strongly isolated in Corsica and Italy. Today, three species of *Alnus* can be found in Corsica, one endemic, *A. alnobetula* ssp. *suaveolens*, *A. cordata*, restricted to south Italy and Corsica, and *A. glutinosa*. Studying their ectomycorrhizal communities permits to ask several questions: are ectomycorrhizal fungal communities more diverse in Corsica? Can we detect isolation or endemism among these fungal species? How far do these communities differ from the continent? Are these three *Alnus* species and ectomycorrhizal communities following a common pattern? We characterized *Alnus*-associated ectomycorrhizal communities in Corsica, in continental France in Italy, for three host species. Only few fungal species were restricted to Corsica and Italy. The diversity of ectomycorrhizal communities was lower for *A. glutinosa* in Corsica, but not for the other species. Finally, *A. glutinosa* and *A. cordata* ectomycorrhizal communities were more similar in Corsica than on the continent. We will discuss these results at the light of recent investigations of *Alnus* biogeography in Europe.

Deciphering fungal bio-indicators of Moroccan cork oak forest functioning

F.Z. Maghnia^{1,2,3}, Y. Abbas¹, F. Mahé², B. Kerdouh², M. Ouajdi¹, Y. Prin², S. Bakami Yahlef⁵, N. El Ghachtouli³, B. Kerdouh², R. Duponnois⁴, H. Sanguin²

¹Service de Sylviculture et Santé des Forêts, Centre National de Recherche Forestière, BP 763, Agdal-Rabat, Maroc

²Cirad, UMR LSTM, F-34398, Montpellier, France

³Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire de biotechnologie Microbienne, PO 2202, Fès, Maroc

⁴IRD, UMR LSTM, F-34398, Montpellier, France

⁵Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime, Direction de l'Enseignement, de la formation et de la recherche BP 607, Rabat, Maroc

The Mediterranean basin constitutes a hot-spot for biodiversity but its conservation is significantly threatened by increasing environmental pressures due to global change. The worsening of environmental conditions has accelerated the land degradation and desertification processes in Mediterranean ecosystems, notably in Southern countries. These processes are affecting not only the vegetation cover and the physico-chemical soil properties but also soil biological components. The Cork oak (*Quercus suber*), an emblematic Mediterranean evergreen sclerophyllous tree, constitutes a major ecological and socioeconomic resource for Mediterranean populations, but suffers various forms of decline. In Morocco, the Cork oak represents one of the most important forest species in terms of surface area (5th) and annual income from forestry products (40%). National politic directives aiming at a better conservation and development of cork oak stands were strengthened, bringing to the foreground new research fields, such as the development of ecological engineering approaches for ecosystem conservation and restoration strategies. A promising approach is the intensification of ecosystem processes through the management of mycorrhizal symbiosis, a key parameter in sustaining plant productivity. The role of local shrubs in sustainable productivity of ecosystems has been indeed largely underestimated, and they were generally removed during agro-ecosystem exploitation (e.g., grazing, clearing), affecting in return mycorrhizal functioning. The success of mycorrhizal interaction-based ecological approaches is however dependant of our understanding of mycorrhizal community structures and assembly rules in relation to floristic diversity in cork oak stands. The current study aims at deciphering fungal diversity in three different cork oak forests (Maâmora, Benslimane, Chefchaouen) composed of degraded and non degraded stands. Fungal communities associated to cork oak and accompanying shrubs were investigated by using high-throughput sequencing technology, i.e. Illumina sequencing, and traditional methods (morphotyping). The results represent the most extensive characterisation of fungal diversity in Moroccan cork oak forests and open several avenues of research focusing on the determination of biological indicators (plant × fungi) of ecosystem functioning.

Étude des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules associées au jujubier (*Zizyphus mauritiana* Lam.) sur le tracé du projet Grande Muraille Verte au Sénégal : impact de l'inoculation, de la fertilisation phosphatée et de la provenance de l'hôte

B. Thioye^{1,2}, H. Sanguin², A. Kane¹, C. Ndiaye¹, S. de Faria³, A. Diédhiou¹, D. Fall¹, M. Bâ⁴, R. Duponnois², S. Ndao Sylla¹, A. Bâ^{2,5}

¹Laboratoire Commun de Microbiologie (LCM) IRD/UCAD/ISRA, Centre de Bel Air CP 18524 Dakar, Sénégal

²Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM) IRD/CIRAD/UM2/INRA/Sup-Agro M, TA A82/J - Campus international de Baillarguet 34398 Montpellier, France

³Embrapa Agrobiologia Km 7 BR 465 Seropedica RJ Cep 23890 000, Brésil

⁴Agence Nationale de la Grande Muraille Verte, Dakar, Sénégal

⁵Laboratoire de Biologie et Physiologie Végétales, Faculté des Sciences Exactes et Naturelles, Université des Antilles, BP 592, 97159, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, France

Le tracé de la Grande Muraille Verte (GMV) constitue un champ d'expérimentation exceptionnel pour valoriser les potentialités symbiotiques et la productivité des plantes dans les zones arides et semi arides. Le jujubier (ou *Zizyphus mauritiana*) est une espèce prioritaire pour le reboisement et l'arboriculture fruitière dans le Sahel. Cet arbre est associé à des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) indispensables à sa croissance et à sa nutrition phosphatée. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact de l'inoculation avec un CMA sélectionné, *Rhizophagus irregularis* IR27, de la fertilisation avec du phosphate naturel (PN) de Matam et de la provenance des jujubiers (Gola variété indienne sélectionnée pour ses fruits de grosse taille et Tasset provenance locale à fruits de petite taille) sur la diversité des communautés de CMA en plantation à Amally, une localité située sur le tracé de la GMV. Les résultats ont montré que l'inoculation et la fertilisation phosphatée augmentent la croissance, le taux de mycorhization et la survie des jujubiers 13 mois après plantation. Toutefois, l'effet de l'inoculation est supérieur à celui de la fertilisation phosphatée. Une approche moléculaire, basée sur le séquençage massif (technologie Illumina MiSeq) du gène de l'ARNr 18S ciblant spécifiquement les Gloméromycètes, a permis de révéler la structure des communautés de CMA associées naturellement aux jujubiers en plantation. L'analyse des données montrent que la majorité des séquences obtenues sont affiliées à 11 genres appartenant à des Glomérales (91,55 %), des Paraglomérales (4,37 %), des Diversisporales (3,9 %) et des Archaeosporales (0,16 %). Le genre *Rhizophagus* est apparu le plus abondant dans les racines des jujubiers. Parmi les trois facteurs étudiés, seule l'inoculation a eu un effet significatif ($P < 0.05$) sur l'abondance relative de quatre genres (*Rhizophagus*, *Glomus*, *Paraglomus* et *Septoglomus*) associés aux jujubiers. Les trois facteurs étudiés ont, cependant, diminué significativement la richesse et la diversité des communautés de CMA. Ces résultats suggèrent que le champignon inoculé se serait maintenu sur les racines des jujubiers inoculés. Une étude de la persistance de la souche inoculée *R. irregularis* IR27 dans les racines des jujubiers est envisagée à long terme et devrait mieux appréhender l'impact de l'inoculation en plantation sur le tracé de la GMV.

Development of high-throughput sequencing (HTS) based sentinel tools for the detection and early warning of airborne fungal pathogens

J. Aguayo¹, C. Jendel¹, C. Husson², I. Cerf-Wendling¹, **R. Ioos¹**

¹ANSES. Laboratoire de la Santé des Végétaux. Unité de Mycologie. Malzéville, France

²INRA. UMR 1136 Interactions Arbres/Micro-organismes. Champenoux, France

The advent of high throughput sequencing methods such as those offered by next-generation sequencing (NGS) techniques has opened a new era in the study of fungal diversity. Faced with changes associated with globalization and climate, NGS tools have the potential to be used in large scale monitoring of invasive fungi due to the non-specific character of this technology. The aim of this study was to optimize and validate a monitoring system combines spore trapping and HTS to study the whole fungal diversity present in a sample. We tested 20 different protocols which included the type of spore trap and the preparation of the samples (spore recovery and DNA extraction) before sequencing. HTS was performed with the Illumina MiSeq platform targeting the ITS1 and ITS2 regions of the fungal Internal Transcribed Spacer. The method shows an interesting potential to be used in large scale monitoring, though analyses must take into account experimental biases inherent to NGS..

Communications orales

Session 3



Synthèse d'informations et analyse du poids des preuves en pathologie végétale

D. Makowski

INRA, UMR 1065 Agronomie, INRA-AgroParisTech, 78850 Thiverval-Grignon, France

L'objectif de cette présentation est d'identifier les sources d'informations disponibles pour prouver l'existence de relations causales entre des facteurs agri-environnementaux (variable climatique, application de méthodes de lutte etc.) et l'occurrence d'une maladie. Je présenterai d'abord les différentes sources d'informations généralement disponibles (données expérimentales, données d'enquêtes, avis d'experts, simulations de modèles) pour établir de telles relations, puis je décrirai plusieurs méthodes permettant d'analyser et de combiner ces informations (méthodes qualitatives, statistique classique, statistique bayésienne, méta-analyse, modèles intégratifs). Je discuterai des avantages et inconvénients de chacune et je conclurai en tentant d'établir une grille opérationnelle pour analyser le poids des preuves.

Temporal niche differentiation of parasites sharing the same plant host: oak powdery mildew as a case study

F. Hamelin¹, A. Bisson², M.L. Desprez-Loustau³, F. Fabre⁴, L. Mailleret⁵

¹AgroCampusOuest UMR 1349 IGEPP, F-35042 Rennes, France

²INRA, UMR 729 MISTEA & UMR 1222 Eco&Sols, 34060 Montpellier, France

³INRA, UMR 1202 BIOGECO, 33612 Cestas, France

⁴INRA, UMR 1065 SAVE, 33883 Villenave d'Ornon, France

⁵INRA, UMR 1355 Institut Sophia Agrobiotech, 06900 Sophia Antipolis, France

Plant diseases are often caused by complexes of closely related species. The coexistence of species with a similar niche challenges the competitive exclusion principle. Recent theoretical studies showed that the coexistence of parasites exploiting the same annual or deciduous plant is possible, assuming a trade-off between in-season transmission and off-season survival. One species survives better and shows up early in the season while the other species transmits better and takes over later in the season. Independently, an empirical study also showed contrasted seasonal dynamics in two species responsible for oak powdery mildew (*Erysiphe alphitoides* and *E. quercicola*), suggesting temporal niche partitioning as in the model. The aim of this study was to explore (1) to what extent (in the parameter space) coexistence is possible; (2) whether the model may fit and explain observations. A mathematical analysis of the model showed that coexistence is a generic phenomenon. Species relative frequencies reversal during the season (as observed for oak powdery mildew) is also possible. We estimated survival and transmission parameters with available data through a maximum likelihood method. Inferred population densities dynamics are consistent with observations: one species is present at a low level all along the season (*E. quercicola*), while the second reaches a peak in spring but has a low survival rate (*E. alphitoides*). Combining mathematical modeling and biological data analysis, we showed that seasonal succession of two sibling parasite species responsible for oak powdery mildew provides one of the few examples of coexistence by temporal niche partitioning at the scale of the season, through exploitative competition. We discuss whether evolutionary branching may have led to temporal niche differentiation in oak powdery mildew.

Développement et calibration d'un modèle de simulation hôte-pathogène : le cas de la cercosporiose noire du bananier

C. Landry¹, F. Bonnot², V. Ravigné², J. Carlier², J. Vaillant³, C. Abadie¹

¹CIRAD, UMR BGPI, Capesterre-Belle-Eau, Guadeloupe

²CIRAD, UMR BGPI, Montpellier, France

³Université des Antilles, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe

La cercosporiose noire du bananier, causée par le champignon phytopathogène *Mycosphaerella fijiensis*, est considérée comme la maladie foliaire la plus dommageable pour les productions bananières. Dans le but d'approfondir les connaissances sur la dynamique du pathogène et sur les composantes de résistance partielle des variétés de bananier, un modèle mécaniste de simulation de la cercosporiose noire a été développé, calibré et évalué. Le modèle simule avec un pas de temps journalier la croissance d'un bananier et la dynamique du pathogène pendant plusieurs cycles de culture en conditions épidémiologiques optimales. Le modèle est constitué de deux sous-modèles et comporte 31 paramètres. Le premier sous-modèle simule l'architecture et la croissance simplifiées du bananier. Le second sous-modèle simule le cycle épidémique détaillé du pathogène incluant le processus d'infection, la croissance et la coalescence des lésions sur les feuilles, la sporulation asexuée et sexuée, et la dispersion des spores sur la plante. L'analyse de sensibilité globale du modèle a permis d'identifier l'influence principale de trois paramètres épidémiologiques : l'efficacité d'infection, la durée d'incubation et la vitesse de croissance des lésions. Ces trois paramètres ont été estimés dans un cadre bayésien avec des méthodes MCMC (Markov Chain Monte Carlo) sur des données de dynamique des lésions (nombre et surface) sur une variété sensible de plantain. L'évaluation du modèle avec un jeu de données indépendant de sévérité de maladie pendant un cycle de culture a mis en évidence la bonne qualité de la prédiction du modèle. Des simulations ont confirmé l'effet des trois composantes de résistance sur la maladie et ont mis en évidence la forte influence de certains paramètres de la croissance du bananier, en particulier le rythme d'émission foliaire, sur la sévérité de la cercosporiose noire.

A sensitivity analysis of a grapevine/powdery mildew model to highlight the interactions between plant growth, pathogen, crop management and climate

A. Calonnec¹, C. Bruchou², Y. Mamerri³

¹INRA, UMR 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, INRA-Bordeaux Science Agro, 33883 Villenave d'Ornon, France

²INRA, UR BioSp, Domaine Saint-Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon Cedex

³LAMFA - Laboratoire amiénois de mathématique fondamentale et appliquée – CNRS-Université de Picardie Jules Verne, 80 039 Amiens, France

To better understand grapevine/powdery mildew dynamical interactions and the capacity of host development to modify disease progress, we developed an epidemiological simulation model coupling both host and pathogen development. The model allowed simulating the spatio-temporal dynamics of host growth and epidemic development from a range of initial conditions regarding the climate, production systems and the density and location of the pathogen. We confirmed that the timing of the first contamination as well as plant vigour have a strong effect on the disease severity. However, we have very few information about the combined effects of parameters and/or conditions, especially those we cannot experiment or measure. Therefore we performed sensitivity analyses (Morris method) by looking at six key parameters either linked to the plant growth or susceptibility (vigour or ontogenic resistance), to the plant management (height of shoot topping, distance between buds at bud break) or to the pathogen behaviour (sporulation rate or spore dispersion). Among these input parameters or conditions, we wanted to identify the one(s) that contribute the most to the output (disease severity) and should therefore be the focus of our attention to increase the robustness of the model and/or to propose optimal plant management for disease control. Two epidemic output variables were investigated: the number of diseased leaves and the diseased surface per vine stock. The contribution of parameters to these variables was examined at key dates: flowering time, shoot topping, 10 and 20 days after shoot topping, and at the end of the season. Simulations were performed for five climatic scenarios and at two dates of inoculation. The high sensitivity of the plant vigour parameter when inoculation is very early was confirmed. However, the analysis reveals that early inoculation parameters linked to the pathogen are the most influent, whereas within the growing season, the influence of parameters linked to the plant vigour or plant susceptibility increases with an enhanced effect with the evolution of the plant-pathogen system. When inoculation is late, the parameter linked to the leaf susceptibility is more influent than parameters linked to the pathogen. The sensitivity analysis thus appears as an efficient method to hierarchize key effects among model parameters and to propose new optimal management function of the environmental conditions (disease initiation, cultivars and pathogen evolution).

Associer des variétés de blé différant fortement par leur architecture : une piste d'amélioration de l'efficacité des associations variétales dans la réduction de la septoriose du blé ?

T. Vidal^{1,2}, A.L. Boixel^{1,2}, P. Lusley¹, M. Leconte², C. de Vallavieille-Pope², L. Huber¹, S. Saint-Jean¹

¹UMR ECOSYS AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay 78850 Thiverval-Grignon, France

²UMR BIOGER AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay 78850 Thiverval-Grignon, France

Les associations de variétés de blé permettent, sous certaines conditions, de réduire la progression de maladies foliaires telles que la septoriose. Les mécanismes impliqués reposent principalement sur une différence de niveau de résistance entre les variétés associées : une variété sensible peut ainsi être protégée par une variété résistante. Il est généralement recommandé d'associer des variétés de caractéristiques agronomiques proches afin de faciliter la gestion des cultures et de limiter la compétition entre variétés. Or, la structure des couverts a un impact sur la progression des épidémies, notamment via la dispersion des spores et le microclimat. En associant des variétés ayant des architectures contrastées, on constitue des couverts hétérogènes. Cette hétérogénéité pourrait être un levier supplémentaire pour le contrôle des maladies fongiques aériennes. Des associations de variétés différant par leurs niveaux de résistance et ayant des hauteurs de paille semblables (homogènes) ou très différentes (hétérogènes) ont été semées au champ afin de tester l'impact d'une hétérogénéité architecturale sur la progression d'épidémies de septoriose et d'analyser les mécanismes mis en jeu. Un suivi hebdomadaire de la sévérité, ainsi qu'un comptage de lésions montrent une réduction de la maladie chez la variété basse sensible (env. 0,8 m) associée à une variété haute résistante (env. 1,4 m) par comparaison avec la même variété basse en culture pure ou en association homogène. Ce constat est mis en relation avec des différences mesurées en termes de structure des couverts, de microclimat et de flux de spores. Par ailleurs, une modélisation biophysique permet de mieux identifier, quantifier et hiérarchiser les mécanismes physiques liés à la dispersion des spores dans les différents traitements, tels que les effets barrière, dilution et l'impact des différences de propriétés entre couches de couverts hétérogènes (notamment caractérisées par des proportions différentes de tissus résistants et sensibles). Nos résultats montrent que la diversité variétale et l'hétérogénéité du couvert résultante constituent un levier potentiel permettant l'amélioration de l'efficacité des associations variétales vis-à-vis de la septoriose du blé.

L'architecture de la pomme de terre peut-elle aider dans la lutte contre le mildiou ?

C. Pasco, B. Marquer, C. Langrume, D. Andrivon

INRA, UMR 1349 IGEPP, Domaine de la Motte, BP 35327, F-35653 Le Rheu Cedex, France

L'architecture des plantes et des couverts est connue pour modifier le développement des épidémies de plusieurs pathogènes aériens. L'une des hypothèses sous-jacentes est que les différentes architectures de l'hôte génèrent différentes conditions phylloclimatiques et microclimatiques, qui, en conséquence, modifient la durée des périodes favorables à la production et la dispersion des spores ou à leur pénétration. Cependant, la mise en évidence expérimentale de tels effets indirects de l'architecture des plantes sur les épidémies manque pour beaucoup de pathosystèmes, particulièrement ceux dont la dynamique est fortement explosive comme c'est le cas pour le mildiou de la pomme de terre causé par l'oomycète *Phytophthora infestans*. Nous avons donc analysé simultanément les séquences microclimatiques et le développement des épidémies de mildiou dans des microparcelles de trois variétés sensibles ayant des architectures contrastées du feuillage : Bintje ayant un port étalé avec des feuilles larges plus couvrantes favorable au mildiou, Monalisa et Anocé avec un port érigé, des entre-nœuds plus longs et un feuillage plus ouvert défavorable à la maladie. Dans un second temps, nous y avons ajouté une quatrième variété, Cheyenne, ayant une architecture proche de celles de Monalisa et d'Anocé (port dressé de type rameux défavorable à la maladie) mais avec un niveau plus élevé de résistance partielle. L'architecture affecte la durée d'humectation à l'intérieur de la canopée en l'absence de pluie, mais n'a pas d'effet significatif durant les périodes pluvieuses. La durée d'humectation à l'intérieur de la canopée (consécutive à l'évaporation de la rosée) est significativement plus longue pour le cv Bintje (avec des entre-nœuds courts et des feuilles larges), particulièrement dans la partie basse de la canopée, que pour le cv Monalisa qui a un port plus érigé. Le développement de l'épidémie est significativement plus rapide pour Bintje que pour Monalisa, ce qui suggère que des différences de microclimat au début de l'épidémie peuvent modifier de façon importante la progression de la maladie. Nous avons aussi montré que la défoliation de la plante par le pathogène à un stade ultérieur de l'épidémie a supprimé les différences de la durée d'humectation enregistrée dans le couvert. La variété Cheyenne, ayant un niveau de résistance partielle plus élevé, permet de retarder de façon significative le développement de la maladie. Ces données montrent que l'architecture de l'hôte peut réduire ou augmenter la progression de l'épidémie de mildiou sous des conditions peu favorables pour le pathogène (périodes sèches où l'humidité provient exclusivement de la formation de rosée), ou lorsque la pression d'inoculum reste limitée (infections précoces). Ces résultats suggèrent que l'architecture doit être prise en compte et combinée avec la résistance partielle et des mesures sanitaires afin de concevoir des idéotypes de pomme de terre capables de faire face aux attaques de mildiou en utilisant un minimum d'applications de pesticides.

Étude de la dissémination aérienne d'un agent pathogène : *Hymenoscyphus fraxineus*

M. Grosdidier¹, R. Ioos², B. Marçais¹

¹INRA UMR 1136 Interactions Arbre Micro-organismes, Route d'Amance, Champenoux, France.

²ANSES Laboratoire de la Santé des Végétaux, Unité de Mycologie, Domaine de Pixérécourt, Malzéville, France

Hymenoscyphus fraxineus est un champignon pathogène exotique invasif qui sévit sur le frêne depuis une vingtaine d'années en Europe. Il inquiète les gestionnaires forestiers par les dommages (flétrissement de feuilles, nécroses foliaires, chancres des rameaux et du collet) qu'il provoque essentiellement sur *Fraxinus excelsior* et *F. angustifolia*, présents en Europe ainsi que sur le pourtour méditerranéen. En France, la maladie a été observée pour la première fois en 2008 en Haute-Saône avec une vitesse moyenne de dispersion de 50 km par an vers l'ouest et le sud du pays. Lors du signalement de ce pathogène dans les années 2000, le DSF (Département de la Santé des Forêts) a mis en place une surveillance nationale des frênes. Grâce à ces données, l'avancée de la maladie peut être suivie et cartographiée. De plus, une méthode de capture de spores couplée à une détection d'ADN spécifique par PCR quantitative en temps réel a été développée et optimisée dans le but d'une épidémiosurveillance d'*H. fraxineus*. Pour cela, des études ont été réalisées dans trois zones. Les deux premières sont localisées sur le front ouest de la maladie, une première comportant 50 pièges à spores étant mise en place en 2012 entre Chaumont et Orléans et une seconde comportant 100 pièges entre Melun et Tours en 2013. La troisième zone comporte 100 pièges répartis sur six transects mis en place sur le front sud de la maladie en 2014 et 2015 dans la vallée du Rhône (Lyon-Valence). Sur cette dernière zone, chaque site a été choisi selon un gradient de température dépendant de l'altitude et de la latitude de la vallée. En effet, les températures chaudes estivales stopperaient le développement de la chalarose et seraient un facteur pouvant limiter le développement du champignon. Les pièges ont été posés pendant deux fois 15 jours entre fin juin et fin août de 2012 à 2015 puis ont été analysés par PCR quantitative en temps réel. Un premier résultat montre que les quantités d'ADN du pathogène sont bien plus importantes en amont du front (zone infectée symptomatiquement) qu'en aval du front. La méthode permet de détecter le pathogène au-delà du front d'infection (jusqu'à 100 km). La détection de la présence du champignon avant l'observation de symptômes sur les frênes semble efficace et prometteuse pour l'utilisation en épidémiosurveillance.

SCLEROLEG, un projet à l'interface entre le labo et le terrain

C. Leyronas¹, M. Bardin¹, M. Duffaut¹, P. Nicot¹, C. Troulet¹, F. Villeneuve²

¹INRA, UR407 Pathologie Végétale, 84140 Montfavet, France

²CTIFL, Centre de Lanxade, 24130 Prigonrioux, France

SCLEROLEG est un projet financé par le CASDAR et labellisé par le GIS PIC-lég associant des partenaires publics de recherche et techniques privés ayant pour objectif de proposer des méthodes alternatives de protection contre *Sclerotinia sclerotiorum*, agent de la pourriture blanche sur 400 espèces végétales. En effet, il n'existe pas de moyens de protection chimique efficaces ni de résistance totale des variétés contre ce champignon. Afin de mieux intégrer et combiner les pratiques, le projet propose notamment de clarifier l'origine de l'inoculum primaire (air, sol), d'estimer une éventuelle spécialisation d'hôte du champignon et enfin d'évaluer la variabilité de sa sensibilité à l'agent de lutte biologique *Coniothyrium minitans*. Une collection de souches de *S. sclerotiorum* isolées de plantes (notamment melon, carotte, haricot et endive) mais également de prélèvements d'air et de sclérotés dans le sol, au sud et au nord de la France, a été constituée grâce à tous les partenaires du projet. Les souches sont génotypées à l'aide de 16 marqueurs microsatellites et un sous-ensemble est phénotypé pour les caractères tels que la vitesse de croissance mycélienne, la capacité à produire des sclérotés, l'agressivité sur plante et la sensibilité à *C. minitans*. Les premiers résultats montrent une présence pratiquement continue d'inoculum dans l'air au-dessus des cultures de carottes, endives et melons. L'absence de différenciation génétique significative entre les souches prélevées sur plantes de melon et celles prélevées dans l'air sur des parcelles de melon va dans le sens d'une origine aérienne de l'inoculum engendrant les symptômes. Ceci est renforcé par l'existence d'haplotypes communs aux deux groupes de souches. L'analyse de souches telluriques, issues de sclérotés, devrait affiner cette observation. Les premiers résultats de phénotypage montrent des différences significatives de vitesse de croissance mycélienne et du nombre de sclérotés produits entre les 66 souches testées. En revanche, ils ne montrent pas de différence significative d'agressivité sur tomate, laitue et melon selon l'hôte d'origine des souches, ce qui va dans le sens d'une absence de spécialisation d'hôte. L'évaluation de la sensibilité à *C. minitans* est en cours.

La fusariose de la vanille : identification, éléments d'étiologie et étude de la dynamique épidémique dans une zone de production polynésienne, en comparaison avec d'autres pathologies, selon un suivi de cohorte

T. Atuahiva^{1,2,3}, S. Koyyapurath⁴, A. Labat², H. Batina⁵, V. Laval⁵, I. Sache^{5,6}, E. Liew⁷, C. Alabouvette⁸, M. Grisoni⁴, C. Dillmann², J. Legrand², M. Dron³

¹Etablissement Vanille Tahiti, BP 912, Uturoa, 98735-Polynésie française

²Université Paris Sud, UMR Génétique Quantitative et Évolution, Ferme du Moulon, Gif-sur-Yvette 91190, France

³Université Paris Sud, Institut Plant Sciences, Bâtiment 630, 91405Orsay cedex

⁴Cirad, UMR C53 PVBMT, Saint Pierre, La Réunion

⁵Inra, UMR1290 BIOGER, Thiverval Grignon, France

⁶AgroParisTech, UMR1290 BIOGER, Thiverval Grignon, France

⁷The Royal Botanic Gardens and Domain Trust, Sydney, NSW, Australie

⁸Agrene, Dijon, France

La vanille est une orchidée dont les gousses et les graines génèrent des arômes très appréciés en industrie agro-alimentaire et en parfumerie. Alors que la demande industrielle en vanille naturelle est grandissante, cette production stagne, voire diminue depuis cinq à dix ans. Les raisons possibles de cette régression sont multiples. L'augmentation de la pression phytosanitaire 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 quatre années consécutives, de 2010 à 2013. Cette étude a permis de décrire la dynamique spatio-temporelle de six maladies et ravageurs de la vanille. Chaque année, entre 15 et 41 exploitations ont été visitées pour relever, tuteur par tuteur, la présence des signes cliniques associés à des pathogènes fongiques (anthracnose, mildiou et fusariose), des virus, ou des insectes (thrips et cochenilles). 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 a été étudiée 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. Dans tous les types d'exploitations, il y a 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 où elle atteint environ 20 %. Enfin, la fusariose est identifiée comme le pathogène le plus présent, 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. 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. Dans ce but, une étude de l'agent causal de la fusariose et de ses manifestations symptomatologiques a été engagée sur *Vanilla planifolia* à la Réunion et sur *V. tahitensis* en Polynésie (Raiatea) en complément d'études préalables réalisées en Indonésie. Il a été ainsi montré que *Fusarium oxysporum* était l'agent majeur de cette fusariose dans toutes les régions de production du monde. Par ailleurs, il a été montré qu'il s'agissait d'un *Fusarium* non systémique et donc essentiellement limité à la lyse des cellules du cortex racinaire. Les premières analyses de diversité réalisées un peu partout dans le monde mais avec des échantillonnages très variables, relatent des situations très différentes, très hétérogène dans l'Océan indien et en Indonésie et, en *a priori*, beaucoup plus monomorphe à Raiatea. L'ensemble de ces études doivent amener, progressivement, à définir un cahier de recommandations pour la conduite de la vanille dans des conditions limitantes de risques de fusariose.

L'incidence du *Phytophthora* sur le pathosystème des agrumes : la théorie des dominos

J.P. Thermo

INRA, UMR 1390 AGAP Corse, F-20230 San Giuliano, France

Les hommes ont cultivé les agrumes pendant 5000 ans sans problème sanitaire majeur. Au XIX^e siècle, le transport massif de végétaux avec du sol a permis la rencontre entre des souches sévères de *Phytophthora* et les agrumes cultivés. Depuis, les problèmes sanitaires majeurs se succèdent et chaque solution à un problème du moment est le germe d'un autre problème à venir.

Communications orales

Session 4



The powdery mildew RNase-like effectors: a useful tool to unlock plant immunity?

P.D. Spanu

Department of Life Sciences, Imperial College London, United Kingdom

Powdery mildews are caused by a group of very successful plant pathogenic fungi which have evolved to become totally dependent on their hosts for survival. They are so-called obligate biotrophs. To achieve this, and in common with other biotrophs, they need to circumvent host immunity. Over the past decade of genomic and post-genomic research, we have found that powdery fungi do this by deploying a large array of effector-like proteins. The most prominent class of these effectors in the cereal mildew fungi of wheat and barley are small proteins that resemble RNases but have lost the capacity to degrade RNA. I propose here that the RNase-Like proteins expressed in the fungus' specialised feeding structures, act by targeting their host immune response. I will present evidence for this mode of action, and discuss how we think this is achieved.

Analyse fonctionnelle d'effecteurs candidats de *Melampsora larici-populina*

C. Lorrain^{1,2}, B. Petre^{1,2,3}, D.G.O. Sanders^{4,5}, J. Sklenar³, J. Win³, S. Kamoun³, A. Hecker^{1,2}, S. Duplessis^{1,2}

¹INRA, UMR 1136 Interactions Arbres/Microorganismes, Centre Inra Nancy Lorraine, 54280 Champenoux, France

²Université de Lorraine, UMR 1136 Interactions Arbres/Microorganismes, Faculté des Sciences et Technologies, 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

³The Sainsbury Laboratory, Norwich Research Park, NR4 7UH Norwich, United Kingdom

⁴The Genome Analysis Centre, Norwich Research Park, NR4 7UH Norwich, United Kingdom

⁵The John Innes Centre, Norwich Research Park, NR4 7UH Norwich, United Kingdom

Le pathosystème peuplier-rouille du peuplier est un modèle d'étude des interactions arbre-microorganisme. Chez les champignons pathogènes biotrophes obligatoires tels que la rouille du peuplier *Melampsora larici-populina*, la sécrétion d'effecteurs conditionne la colonisation des cellules hôtes. Les effecteurs sont des molécules qui permettent notamment de manipuler les fonctions cellulaires et de contourner le système immunitaire de l'hôte. Une des questions clés de la biologie des effecteurs est de comprendre le rôle fondamental de ces molécules dans la cellule-hôte. *M. larici-populina* possède un large répertoire de protéines sécrétées de fonctions inconnues qui pourraient correspondre à des effecteurs. Une approche effectoromique a été développée afin de sélectionner, cloner et exprimer une vingtaine d'effecteurs candidats fusionnés à un marqueur fluorescent (*Green Fluorescent Protein*) dans des cellules foliaires de *Nicotiana benthamiana* dans le but de (i) déterminer leurs localisations subcellulaires et (ii) d'identifier des partenaires de ces protéines. Des partenaires potentiels ont été identifiés pour cinq effecteurs candidats par co-immunoprécipitation couplée à la spectrométrie de masse. La localisation subcellulaire de six effecteurs candidats a pu être établie par imagerie confocale *in vivo*. L'un de ces candidats en particulier, nommé CTP1 (Chloroplast-Targeted Protein 1), porte un peptide d'adressage nécessaire et suffisant à la translocation de la GFP dans les chloroplastes. CTP1 fait partie d'une famille d'effecteurs candidats spécifique des Melampsoraceae dont deux membres sont également adressés aux chloroplastes. Les travaux en cours visent à élucider la fonction de la famille CTP, notamment à travers des approches de biologie structurale et de transgénèse sur peuplier.

Involvement of secreted proteins in arbuscular mycorrhizal symbiosis establishment

L. Kamel, M. Le Marquer, M. Malbreil, N. Tang, H. San Clemente, G. Becard, C. Roux, N. Frei dit Frey

Université de Toulouse, UPS, UMR5546, Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, 31326 Castanet-Tolosan, France
CNRS, UMR5546, 31326 Castanet-Tolosan, France

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), belonging to the fungal phylum Glomeromycota, form mutualistic symbioses with roots of almost 80 % of land plants. To fulfill their life cycle, AMF have to penetrate into host roots and grow until cortical cells where they develop a fungal structure called “arbuscule”, where nutrient exchanges between the two organisms take place. In pre-symbiotic stage, AMF secrete different signals that activate host cell reprogramming and prepare root colonization. However, plant defences are transiently activated in early steps of symbiosis. It was suggested that AMF possess and secrete proteins able to repress immune responses. Kloppholz and co-authors demonstrated the incidence of the secreted protein SP7 in the establishment of the symbiosis. However the recent release of genomic data from the AM fungus *Rhizophagus irregularis* revealed that this species possesses a large set of putative secreted proteins. In order to discover which ones are of major incidence to promote symbiosis, we first defined the whole secretome of two AMF, *R. irregularis* and *Gigaspora rosea*. The comparative expression analysis of RNAseq data from these two fungi in interaction with different hosts led to the identification of a common list of highly induced secreted proteins during symbiosis. This result highlighted that AMF rely on conserved molecular mechanisms allowing them to colonize various hosts. We are currently investigating the role of putative secreted proteins in AM symbiosis through in planta overexpression and subcellular localization. Ongoing works deal with the development of tools to validate effector secretion activity using the hemibiotrophic fungus *Colletotrichum higginsianum* and by silencing these candidate genes using virus-induced gene silencing (VIGS) approach.

Characterization of small proteins secreted by lignolytic fungi

N. Valette, E. Gelhaye, M. Morel-Rouhier

¹Université de Lorraine, UMR 1136 Interactions arbre/microorganismes, Nancy, France

Saprophytic fungi play an important biological and ecological role in forest ecosystems. Indeed, thanks to many extracellular enzymes, they are able to degrade all wood components, a key step for carbon recycling. During this process, wood releases various molecules, called extractives, which can be toxic for fungal cells. This is the reason why these microorganisms have developed extensive detoxification systems. Interestingly, a transcriptomic analysis revealed that numerous up-regulated genes involved in extractive response in *Phanerochaete chrysosporium* are still of unknown function. Among them, one group called small secreted proteins (SSP) has been highlighted. A SSP from *P. chrysosporium* has been produced as a recombinant protein in *Escherichia coli* and purified. First results show that this SSP has several interesting structural features. Indeed, it can form a kind of hydrogel depending on pH. Moreover, the protein is highly stable being insensitive to temperature, denaturing agents or reductants. Since homologues have been identified in ectomycorrhizal or litter degrading fungi, its role could be related to detoxification or stress response in fungi. We are currently assessing this point by developing genetic tools in *P. chrysosporium* to decipher the physiological role of these proteins in stress conditions.

A two genes – for – one gene interaction between *Leptosphaeria maculans* and *Brassica napus*

Y. Petit, A. Degrave, M. Meyer, F. Blaise, B. Ollivier, T. Rouxel, I. Fudal, M.H. Balesdent
INRA, UMR 1290 INRA-AgroParisTech BIOGER, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, F-78850 Thiverval-Grignon, France

Leptosphaeria maculans is a hemibiotrophic ascomycete that causes stem canker of oilseed rape. That phytopathogenic fungus interacts with its host (*Brassica napus*) according to the gene-for-gene concept. The most economically and environment friendly method of control of stem canker is the genetic control by using host resistance. Single gene resistance is extremely efficient, but races of the pathogen virulent towards a resistance gene can appear in a few years and necessitates continuously new breeding programs. Moreover, specific resistances are rare in oilseed rape, and a lot of efforts are made to find other resistance genes in other *Brassica* species. To date, 11 interactions were genetically characterized between *L. maculans* avirulence genes and corresponding resistance genes in *Brassica*, and five of those avirulence genes were cloned. Recently, the avirulence gene *AvrLm10*, which is recognized by the resistance gene *Rlm10* of the black mustard (*B. nigra*) has been cloned. *AvrLm10* corresponds in fact to two avirulence genes, *AvrLm10_1* and *AvrLm10_2*, which are located in the same AT-rich genomic region. They encode for small secreted proteins (SSP), are co-regulated and over-expressed 7 days post-infection. Each of them is necessary but not sufficient to induce resistance towards *Rlm10*. Silencing of one of those genes is sufficient to abolish recognition by *Rlm10*. Silencing by RNA interference of *AvrLm10-1* induces an increase of lesion size on oilseed rape leaves while silencing of *AvrLm10-2* has no major effect on aggressiveness of the fungus. That interaction of two avirulence genes against one resistance gene is therefore different from the classical gene-for-gene concept. It suggests that *AvrLm10_1* and *AvrLm10_2* could directly interact and / or that they could target the same plant protein. A Y2H screen suggested a direct interaction between *AvrLm10-1* and *AvrLm10-2*. This interaction was confirmed with Bimolecular Fluorescence Complementation (BiFC) experiments. Coimmunoprecipitation experiments are also in progress to confirm this interaction.

Global analysis of the stress signalling pathway by phosphoproteomics reveals a new pathogenic factor in *Botrytis cinerea*

J. Kilani^{1,2}, M. Davanture³, M. Zivy³, S. Fillinger¹

¹INRA, AgroParisTech, UMR1290, BIOGER, 78850 Thiverval-Grignon, France

²CNRS, Plateforme d'Analyse Protéomique de Paris Sud Ouest, PAPPSO, 91190 Gif-sur-Yvette, France

Fungi rapidly adapt to their environment involving signalling pathways, *e.g.* those under the control of mitogen activated protein kinases (MAPKs). The fungicide fludioxonil, one of the most efficient fungicides especially against the grey mould agent, *Botrytis cinerea*, activates the MAPKs involved in osmoregulation, cell wall integrity, development and pathogenicity in this necrotrophic pathogenic fungus. In order to understand the perception and transduction of the fludioxonil signal and, more globally, the stress signalling pathway, a comparative phosphoproteomic analysis using fludioxonil was performed. In a preliminary study approximately hundred differentially phosphorylated proteins were identified in *B. cinerea*. Among those the phosducin-like protein PhnA. Since phosducins are involved in the G-protein signalling pathway, we wanted to understand the involvement of PhnA in fludioxonil signalling and the link to the MAPKs. We have therefore started its functional analysis by gene knock-out. The *phnA* deletion mutant did not produce necrosis in planta, and displayed reduced *in vitro* growth. Moreover it has strongly reduced conidia and sclerotia production. Thus *phnA* is involved in vegetative growth, in development and is a new pathogenicity factor in *B. cinerea*. We have identified serine 66 in the PhnA protein to be phosphorylated after exposure to fludioxonil. Through the construction of PhnA^{S66A} and PhnA^{S66D} mutants we are currently investigating the role of the phosphorylation status in PhnA function. In addition, the transduction of the fludioxonil signal to the MAPKs Sak1 and Bmp3 will be analysed..

Induction du métabolisme phénolique chez l'olivier en réponse à l'inoculation par le *Verticillium dahliae*

I. Ben Salah¹, A. Benaammi¹, A. Douira², A. Moukhli³, A. Filali-Maltouf⁴, C. El Modafar¹

¹Laboratoire de Biotechnologie, Valorisation et Protection des Agro-Ressources, Faculté des Sciences et Techniques Guéliz, Université Cadi Ayad, Guéliz, Maroc

²Laboratoire de Botanique et Protection des Plantes, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra, Maroc

³UR, Amélioration des Plantes, Inra Marrakech, Maroc

⁴Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat, Maroc

Au Maroc, l'olivier représente la principale culture fruitière (50 % de la superficie arboricole nationale) et présente un intérêt alimentaire et socio-économique considérable pour le pays. Toutefois, l'oléiculture nationale est constituée quasi-totalement par une seule variété, la Picholine marocaine, connue par sa sensibilité aux maladies fongiques, notamment la verticilliose causée par *Verticillium dahliae*, qui est considérée actuellement comme étant l'une des maladies les plus répandues dans le monde. De nombreuses études ont montré l'implication potentielle des composés phénoliques dans la réaction des plantes aux agents pathogènes. Afin de comprendre cette interaction hôte-parasité, nous avons cherché à déterminer l'effet de l'inoculation sur l'induction des composés phénoliques et les enzymes qui lui sont associés, et ce à travers quatre composantes de défense (phénols totaux, lignine, phénylalanine amonalyase [PAL]) qui accompagnent le processus pathologique à travers un modèle simple, rapide et non destructif (brindilles maintenues en survie sur un milieu nutritif). Deux variétés sont étudiées, la Picholine marocaine, sensible, et la Picholine du Languedoc, relativement plus résistante. La cinétique post-infectionnelle de ces quatre composantes montre clairement un comportement distinct entre les deux variétés. Les résultats obtenus montrent que les brindilles de la variété la moins sensible renferment des teneurs constitutives en polyphénols totaux plus élevées que celles de la variété marocaine. L'inoculation se traduit par une importante accumulation des polyphénols, de l'intensification de la lignification dont la rapidité et l'intensité distinguent les deux variétés étudiées. Concernant l'activité PAL, nous remarquons que son induction est rapide (5^e jour) et intense chez la variété résistante alors qu'elle est tardive (20^e jour) et faible chez la variété sensible.

Lien entre agressivité et composition des exsudats chez *Alternaria dauci*, agent causal de la brûlure foliaire de la carotte

J. Courtial¹, L. Hamama², Y. Renaux¹, M. Lecomte¹, E. Guichard¹, J.J. Hellesbeux³, S. Gagné², P. Richomme³, M. Briard², M. Briard², P. Poupard¹, R. Berruyer¹

¹Université d'Angers, Institut de Recherche en Horticulture et Semences (INRA, Agrocampus-Ouest, Université d'Angers), SFR 149 QUASAV, 49045 Angers, France

²Agrocampus Ouest, Institut de Recherche en Horticulture et Semences (INRA, Agrocampus-Ouest, Université d'Angers), SFR 149 QUASAV, 49045 Angers, France.

³Université d'Angers, Laboratoire Substances d'Origine Naturelle et Analogues Structuraux, SFR 149 QUASAV, 49045 Angers, France

La brûlure du feuillage, due à *Alternaria dauci*, est la maladie foliaire la plus préjudiciable pour la production de carottes. Les traitements fongicides utilisés sont coûteux, potentiellement nocifs pour l'environnement, et ne sont pas toujours efficaces. Des variétés à résistance partielle sont commercialisées mais leur niveau de résistance reste insuffisant. Malgré un certain nombre de découvertes récentes, les mécanismes de la résistance partielle sont mal connus. Depuis plusieurs années, nous nous sommes attachés à élucider ces mécanismes dans le cas de l'interaction carotte / *A. dauci*. Lors de travaux précédents, nous avons montré que la résistance partielle de la carotte face à *A. dauci* inclut une résistance aux exsudats fongiques. En effet, il existe une corrélation entre le niveau de résistance des cellules traitées (embryogenèse somatique après trois semaines d'exposition) et la résistance des génotypes évaluée au niveau de la plante entière. Cependant, la composition des exsudats fongiques n'est pas connue, ainsi que le rôle de la toxicité de ces exsudats dans l'interaction. Dans un premier temps, le rôle de la toxicité des exsudats dans l'interaction a été étudié en évaluant la toxicité des exsudats produits par plusieurs souches d'*Alternaria dauci*. Les résultats de cette étude ont montré une forte corrélation entre cette toxicité et l'agressivité des souches étudiées. Cette corrélation signifie que la production de toxines varie beaucoup d'une souche à l'autre d'une part, et que d'autre part cette production joue un rôle important dans le niveau d'agressivité des souches. Lors de travaux précédents, nous avons montré que cette toxicité se concentrait dans la phase organique. Ici, nous avons montré que cette phase était présente en quantités d'autant plus importantes que la souche est agressive. Enfin, des travaux de fractionnement par HPLC ont montré que cette phase organique avait une composition variable en fonction de sa toxicité. Pour certains composés, la corrélation entre la toxicité et leur concentration est très forte. Ce sont ces composés que nous étudions actuellement.

La symbiose mycorhizienne au service de la remédiation et de la gestion des sols pollués

A. Lounès-Hadj Sahraoui, H. Meglouli, I. Lenoir, M. Calonne, J. Fontaine

Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV). Université du Littoral Côte d'Opale, 50, rue Ferdinand Buisson, 62228 Calais cedex, France

Compte tenu du risque potentiel pour l'environnement et la santé humaine, la problématique des sites et sols pollués est devenue cruciale. Ainsi, la loi Grenelle II de l'environnement a intégré la gestion et la remédiation des sols pollués dans ses dispositions prioritaires, en soulignant dans son article 43 l'importance d'utiliser de préférence « les techniques de dépollution par les plantes ». La phytoremédiation (utilisation des plantes et de leurs microbiotes associés, pour éliminer, contenir ou rendre moins toxiques les contaminants environnementaux) est jugée plus conforme aux enjeux du développement durable que les techniques physico-chimiques, qui en dépit de leur rapidité, conduisent à l'altération des propriétés biologiques du sol et de sa biodiversité. Toutefois, l'application de cette phytotechnologie est limitée à cause de la faible biodisponibilité des polluants dans le sol et de leur phytotoxicité. L'un des moyens d'optimisation et d'amélioration des performances de la phytoremédiation appliquée aux sols pollués serait l'apport d'un amendement biologique à base de champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA). Cependant, l'utilisation des mycorhizes comme outil potentiel de remédiation des sols pollués nécessite de répondre, au préalable, à plusieurs questions dont (i) Quel est l'impact des polluants sur la survie et le développement des CMA ? (ii) Est-ce que les CMA protègent les plantes contre la phytotoxicité des polluants ? (iii) Quel est le rôle des mycorhizes dans la dissipation/immobilisation des polluants ? C'est pourquoi, ces différents aspects constituent les principaux objectifs de nos travaux de recherche. Ils seront présentés et discutés sur la base de résultats obtenus à travers la participation à divers projets de recherche mettant en œuvre la phytoremédiation assistée par les CMA de l'échelle du laboratoire (*in vitro* et en microcosmes) jusqu'à l'échelle des sites ateliers [sites de Metaleurop et de l'Union du réseau SAFIR (Sites Ateliers Français pour l'Innovation et la Recherche) et site de la Ferme du Noir Pot à Halluin] historiquement contaminés par différents types de polluants (hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures polycycliques aromatiques, dioxines/furanes, éléments traces métalliques].

Wheat Effector Assisted Breeding for resistance to tunggal pathogens (WEAB)

M.H. Lebrun¹, T. Langin², T. Kroj³, J. Cockram⁴, R. Oliver⁵, G. Kema⁶, R. Valade⁷, S. Praud⁸, V. Laurent⁹, L. Duchalais¹⁰, V. Lein¹¹

¹INRA BIOGER, Thiverval-Grignon, France

²INRA GDEC Clermont Ferrand, France

³INRA BGPI, Montpellier, France

⁴NIAB, Royaume-Uni

⁵CCDM, Australie

⁶PRI, Wageningen, Pays-Bas

⁷Arvalis-Institut du Végétal, Thiverval-Grignon, France

⁸Biogemma, Clermont-Ferrand, France

⁹Florimond-Desprez, Cappelle-en-Pévèle, France

¹⁰RAGT, Louville-la-Chenard, France

¹¹CETAC, Estrées-Saint-Denis, France

The discovery that fungal effector proteins are important for infection represents a novel opportunity for controlling plant diseases. Use of fungal effectors for resistance breeding is a game-changing technology creating opportunities and innovative methods to identify novel resistances to fungal diseases in plants. These methods are amenable to high throughput phenotyping. The recent availability of high-density genetic marker coverage of the wheat genome allows the mapping of novel resistances identified through such high throughput phenotyping. We are using necrotrophic protein effectors from *Parastagonospora nodorum* (*Pn*) and toxic proteins from *Fusarium graminearum* (*Fg*) and *Zymoseptoria tritici* (*Zt*) to detect resistance genes/QTLs in wheat. Complementary strategies will be used to detect a large array of resistance mechanisms to fungal effectors. Recombinant necrotrophic protein effectors and toxic proteins are produced in yeast and the purified proteins are delivered into wheat leaves by syringe infiltration. Symptom development is scored few days after infiltration. Screening of 220 elite French wheat cultivars with *Pn* ToxA, 1 and 3 has highlighted a large number of cultivars insensitive to the three necrotrophic effectors, and only a few cultivars that were sensitive to all three effectors, suggesting that previous breeding for field resistance to *Pn* (1960-1980) led to the accumulation of insensitivity alleles. To validate this hypothesis, we are currently pathotyping these wheat cultivars with a French *Pn* isolate producing Tox1 and 3. Mapping of loci controlling insensitivity to *Pn* necrotrophic effectors and resistance to *Pn* isolate will be performed using genome-wide association analyses. This project will facilitate plant breeding efforts to select for resistance to important fungal pathogens by providing a 'toolkit' of bio-molecular markers.

Influence de facteurs biotiques et abiotiques sur l'expression d'effecteurs du champignon *Leptosphaeria maculans*

M. Meyer¹, S. Bourras², M.H. Balesdent¹, T. Rouxel¹

¹INRA, UMR 1290 INRA-AgroParisTech BIOGER, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, F-78850 Thiverval-Grignon, France

²University of Zürich, Institute of Plant Biology, Zollikerstrasse 107, CH-8008 Zürich, Suisse

Lorsque les plantes sont attaquées par des agents phytopathogènes tels que les champignons, elles mettent en place des stratégies de résistance qui leur permettent de contenir ces attaques. Pour surmonter ces résistances, les champignons doivent eux aussi utiliser des artifices leur permettant d'arriver à prendre le contrôle du métabolisme des cellules végétales. Pour se faire, ils vont sécréter un cocktail de plusieurs dizaines (voire centaines) de protéines extracellulaires dont certaines vont venir cibler les voies du métabolisme cellulaire et/ou interférer avec les réactions de défense de la plante. Cette sécrétion massive d'effecteurs semble de plus se réaliser en plusieurs vagues. *Leptosphaeria maculans* est un champignon hémibiotrophe qui cause de sévères dégâts sur les cultures de colza. Son cycle de vie complexe passe par :

- une phase saprophyte sur résidus de culture durant laquelle va avoir lieu sa reproduction sexuée ;
- une phase biotrophe correspondant à la croissance des hyphes mycéliens dans l'apoplasme de la feuille suivie d'une phase nécrotrophe caractérisée par l'apparition de macules foliaires ;
- une phase endophyte durant laquelle le champignon va aller coloniser les tissus de la tige ;
- une phase nécrotrophe au niveau du collet entraînant la fragilisation de la tige et une possible verse parasitaire.

Son génome est constitué d'une alternance de régions euchromatiniennes (isochores GC) et hétérochromatiniennes (isochores AT). Plus de six cent cinquante petites protéines sécrétées (PPS) ont été répertoriées dans le génome dont 20 % sont présentes dans les isochores AT par ailleurs très pauvres en gènes. Des analyses de RNAseq réalisées à différents stade du cycle infectieux laissent apparaître que deux vagues de sécrétion de protéines se succèdent : la première, 7 jours après le début de l'infection sur cotylédon, fait intervenir la très grande majorité des PPS issues des régions AT alors qu'à l'inverse des PPS provenant majoritairement des régions GC paraissent impliquées dans la phase tardive de l'infection (tige). D'autres études au laboratoire ont également démontré que l'expression simultanée des PPS des isochores AT au cours de la phase précoce de l'infection est rendue possible grâce à un contrôle épigénétique. Jusqu'à présent, il était admis que la détection de l'expression de PPS des régions AT était très difficile *in vitro*. Nos études montrent que cette détection est possible mais est fonction de la composition du milieu utilisé pour faire croître *L. maculans*. Nous montrerons également que des facteurs biotiques (source de carbone et d'azote, antibiotiques) et abiotiques (pH et température) font varier l'expression de PPS fongiques et que les mêmes paramètres physico-chimiques influent sur l'expression des effecteurs non seulement de *L. maculans* mais également de bactéries capables de se développer dans l'apoplasme.

Exploitation of the knowledge on oomycete effectors to drive the discovery of durable disease resistance in cultivated plants: the case of *Plasmopara halstedii*, the agent of sunflower downy mildew

Y. Pecrix, L. Buendia, Q. Gascuel, C. Penouilh-Suzette, **L. Godiard**

Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), INRA-CNRS, INRA Toulouse, F-31326
Castanet-Tolosan, France

Plasmopara halstedii is an obligate biotroph oomycete causing downy mildew disease on sunflower, *Helianthus annuus*, an economically important cultivated crop. Disease symptoms observed in fields, plant dwarfism, leaf bleaching, sporulation and production of infertile flowers, impair strongly seed yield. *P. halstedii* pathotypes are defined by their divergent virulence profiles in a set of sunflower differential hosts carrying different *Pl* resistance genes, not yet cloned. Number of pathotypes increased from 1 to 16 during the last 25 years in France, concomitantly with the breakdown of *Pl* resistance loci used in fields. Finding broad-spectrum *a priori* durable resistance against pathogens would open the doors to efficient, environmentally friendly and cost-effective disease control. In oomycetes, two classes of effectors are translocated into the host plant, RXLRs and CRNs, but oomycete avirulence genes described so far are RXLRs. Through high throughput genomic sequencing of 17 *P. halstedii* pathotype isolates, we selected by stringent *in silico* methods 74 putative RXLR effectors. 33 show polymorphism with at least one pathotype whereas 41 are conserved in sequence among the 17 pathotypes. Analysing the pathotype effector polymorphism in regard to the content in *Pl* resistant genes of sunflower lines should help us to identify candidates for pathogen avirulence genes. Triggering of defense reactions (Hypersensitive Response) through their transient expression in sunflower lines carrying known resistance genes will be used to validate them. Subcellular localization experiments of selected candidate effectors fused to GFP should give hints to their function in the plant cell. In addition, polymorphic effectors will be used to design molecular markers for rapid pathotype identification. The 35 conserved effectors correspond to highly expressed genes upon sunflower infection and are suspected to be essential genes for the pathogen. They are tested by agroinfiltration on various resistance sources of *H. annuus* and some of them induce plant cell death. Co-segregation of resistance with cell death activity caused by the effector will have to be tested on segregating populations. If true, these effectors should accelerate the identification, the functional characterization and the mapping of broad-spectrum sunflower resistances potentially sustainable.

Causer des dommages à l'ADN végétal : une nouvelle stratégie d'infection décryptée chez l'oomycète racinaire *Aphanomyces euteiches*

L. Camborde, C. Pel, B. Dumas, E. Gaulin

Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales (LRSV), UMR 5546 CNRS-Université Paul Sabatier, Pôle de Biotechnologie Végétale, BP42617 Auzeville, 31326 Castanet-Tolosan

Aphanomyces euteiches est un oomycète, parasite racinaire de légumineuses. Le genre *Aphanomyces* occupe une position taxonomique originale au sein des Oomycètes, et il est le seul qui comprend des espèces affectant soit des végétaux soit des animaux. Un programme de séquençage de différentes souches et espèces du genre *Aphanomyces* (AphanoDBv2.0 (<https://www.polebio.lrsv.ups-tlse.fr/aphanoDB/>)) a mis en exergue une large famille d'effecteurs de type Crinklers (CRN). Les CRNs, identifiés initialement chez l'oomycète *Phytophthora infestans* (>300 gènes) et décrits comme spécifiques aux oomycètes, ont été également caractérisés chez le chytride *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), responsable du déclin de nombreuses espèces de batraciens. Les CRNs présentent une structure modulaire avec une partie N-terminale conservée impliquée dans l'adressage de l'effecteur à l'hôte et une partie C-terminale hypervariable suspectée d'assurer la fonction effectrice. Peu de données quant à la fonction des CRNs sont disponibles. L'analyse fonctionnelle des crinklers CRN13s d' *A. euteiches* (AeCRN13) et de *B. dendrobatidis* a été entreprise (BdCRN13) en exprimant ces gènes chez le tabac et dans des cellules d'embryons de xénope. Les tissus végétaux exprimant AeCRN13 augmentent significativement leur sensibilité à l'infection par un oomycète, suggérant le rôle important de cet effecteur dans le pouvoir pathogène d' *A. euteiches*. AeCRN13 et BdCRN13 sont localisés aussi bien dans le noyau de cellules végétales que de ceux d'embryons de xénope où ils conduisent au développement de cellules anormales et à la mort cellulaire. Le développement d'une technique originale de détection des interactions protéines-ADN nous ont permis de montrer que les deux CRN13 sont capables de se lier à l'ADN nucléaire via un site nucléase de type HNH, conduisant à des dommages à l'ADN révélés par l'induction de mécanismes de réparation. Ces travaux révèlent un nouveau mécanisme de pathogénie chez des eucaryotes filamenteux phylogénétiquement distincts, qui produisent des effecteurs génotoxiques afin de faciliter l'infection.

Communications orales

Session 5



1000 Fungal Genome Project: assembling the fungal tree of life with genome-scale data

J.W. Spatafora

Oregon State University, Corvallis, OR, USA

1000 Fungal Genomes (1KFG) Project is a global, community-based project administered by the Joint Genome Institute, a subsidiary of the United States Department of Energy. The goal of 1KFG is to facilitate the sequencing of fungal genomes across the Kingdom Fungi and to use these data to test and refine hypotheses about the evolution of fungi; to promote research in nonmodel organisms including metagenomics; and to leverage fungal metabolism for the benefit of society. Preliminary data and analyses will be presented on the use of genome scale data to infer phylogenetic relationships among the fungi with an emphasis on the evolution of early diverging lineages of fungi and their metabolism. Phylum-level clades of fungi are compared in the context of major evolutionary events in the fossil record including the Cambrian Explosion of animals and the colonization of land by the green plant lineages. Preliminary results support a diversification of fungi in association with animals, which occurred early in the evolution of Kingdom Fungi and possibly pre-dates fungal-land plant associations.

Update on *Melampsora larici-populina* genomics

S. Duplessis, S. De Mita, F. Halkett, P. Frey

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

Université de Lorraine, UMR 1136 Interactions Arbres – Microorganismes (IAM), 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

The genome of the poplar rust fungus *Melampsora larici-populina* has been sequenced almost 10 years ago by an international consortium in the frame of the Community Sequencing Program of the US DoE Joint Genome Institute. The detailed analysis of the genome content and gene annotation, along with comparison to the cereal rust fungus *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, has revealed the singular profile of rust fungal genomes. Similar to other obligate biotrophic fungi (e.g. powdery mildews), rust fungi exhibit a large genome size (>80Mb) and an important content in repeat elements (~45%). In contrast, they possess a large gene complement (>15,000 genes) marked by the presence of many expanded gene families specific to the Pucciniales order or the corresponding families (i.e. Melampsoraceae or Pucciniaceae). Since, more rust genomes have been sequenced, analyzed and published, confirming these general trends and opening great perspectives for comparative rust genomics. The genome of *M. larici-populina* has been instrumental to explore the genetic diversity of the fungus through re-sequencing of isolates sampled through the years in natural populations. Beside, gene expression during poplar leaf infection or throughout the life cycle has helped to build a comprehensive transcriptomic analysis of the rust fungus. More recently, a genetic map of the poplar rust fungus has been obtained from a self-cross of the reference genome isolate. All these data have led to the version 2 of the genome now anchored to 18 linkage groups, including a refined gene annotation available online on the MycoCosm website. We will provide here a complete update on the poplar rust genome and an overview of ongoing works to decipher the biology of this fascinating and devastating rust fungus.

Approche globale de la tolérance du lin, *Linum usitatissimum*, à l'agent pathogène *Verticillium dahliae*, par transcriptomique et métabolomique

S. Lecomte^{1,2}, M. Cherkaoui^{1,3}, O. Fliniaux¹, R. Molinie¹, J.X. Fontaine¹, C. Rusterucci¹, D. Cailleu⁴, L. Zabijak⁵, P. Marcelo⁵, O. Van Wuytswinkel¹, R. Tavernier², L. Gutierrez³, F. Mesnard¹, C. Pineau²

¹Laboratoire Biologie des Plantes et Innovation (BIOPI) EA3900, Université de Picardie Jules Verne, Amiens

²Linéa – Semences de Lin, Grandvilliers

³Centre de Ressources Régionales en Biologie Moléculaire, Amiens

⁴Plateforme analytique, Amiens

⁵Plateforme ICAP, Amiens

La verticilliose du lin est une maladie vasculaire sévère causée par le champignon ascomycète tellurique *Verticillium dahliae*. Cette maladie, en recrudescence chez le lin, peut compromettre la récolte et provoquer une perte totale du rendement en fibres. Bien que *V. dahliae* infecte précocement les plantes, les conséquences les plus marquantes de la maladie n'apparaissent qu'après arrachage, lorsque les plantes de lin sont couchées au sol pour le rouissage. Cette maladie est encore peu connue chez le lin et son contrôle est complexe. D'une part, *V. dahliae* est capable de survivre dans le sol plusieurs années sous forme de microsclérotés. D'autre part, aucun traitement chimique n'est efficace et seules quelques variétés sont un peu moins sensibles. L'objectif est de définir les déterminants transcriptomiques et métabolomiques liés à la variabilité de la réponse de la plante au champignon afin d'identifier des marqueurs de résistance. Des comportements discriminants face à la maladie ont pu être observés sous conditions contrôlées par infection artificielle. Des échantillons récoltés lors d'une cinétique d'infection chez deux variétés (une sensible et une plus tolérante à la verticilliose) ont été analysés par des approches globales de transcriptomique et de métabolomique. Des microarrays ont été réalisés sur les échantillons récoltés 7 jours après infection. Les gènes dont l'expression est significativement différente entre les plantes saines et infectées ont été sélectionnés. Les différences observées entre les deux lignées semblent indiquer la mise en place de stratégies de défense différentes. L'expression de ces gènes est suivie à 10, 15 et 20 jours après infection pour étudier leurs rôles lors de l'infection. Des analyses par spectroscopie RMN (extraction hydroalcoolique) ont été réalisées selon la même cinétique que pour les analyses transcriptomiques sur trois organes (racines, tiges, feuilles) des deux variétés dans les conditions saine et infectée. Les premières analyses montrent une atteinte différentielle du métabolisme chez les deux variétés. La progression du champignon dans la plante est caractérisée au cours des trois premières semaines post-infection, par quantification et par observation microscopique. Deux méthodes ont été développées : une quantification moléculaire par qPCR et une quantification biochimique par dosage de l'ergostérol. Pour les observations microscopiques, la souche de *V. dahliae* isolée du champ d'essais a été transformée de façon à exprimer la GFP. Nous espérons compléter les données quantitatives, indiquant la présence du champignon dans l'ensemble de la plante, par des informations spatio-temporelles permettant de cartographier sa progression. Les premiers résultats tendent à montrer que les plantes les plus tolérantes parviennent à maintenir une quantité plus faible de champignon que les plantes les plus sensibles lors de la croissance.

De levure à mycélium : suivi des modifications de l'expression génique chez *Ophiostoma novo-ulmi*, agent de la graphiose de l'orme

M. Nigg, L. Bernier

Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes (IBIS), Université Laval, Québec, G1V 0A6, Canada
Centre d'Étude de la Forêt (CEF) et Département des Sciences du bois et de la forêt, Université Laval, Québec, G1V 0A6, Canada

Le champignon phytopathogène *Ophiostoma novo-ulmi* est l'un des agents responsables de la maladie hollandaise de l'orme, ou graphiose de l'orme. Cette maladie vasculaire a causé la mort de la majorité des ormes adultes de l'hémisphère nord durant le siècle dernier et reste une menace pour les paysages urbains. *O. novo-ulmi* est dimorphique. Ainsi, il peut passer d'une phase de croissance mycélienne (pluricellulaire) à une phase levuriforme (unicellulaire) de manière réversible. Cette particularité est considérée comme essentielle pour le pouvoir pathogène du champignon, puisque celui-ci utiliserait les deux phases pour assurer l'infection totale des arbres. Cependant, ce postulat reste peu étudié et les mécanismes associés au succès pathogène d'*O. novo-ulmi* sont mal connus. Par des approches utilisant des technologies de séquençage de nouvelle génération qui permettent d'étudier le transcriptome (RNAseq), nous essayons de vérifier le postulat qui lie la pathogénie du champignon au dimorphisme en se concentrant sur les régulations de l'expression génique. Nos travaux portent sur la souche de référence *O. novo-ulmi* sp. *novo-ulmi* H327, dont le génome est annoté et publié. Les transcriptomes des phases mycélienne et levuriforme ont été séquencés. Nous avons pu mettre en évidence des batteries de gènes qui sont exprimés spécifiquement dans l'une ou l'autre forme. Différentes analyses effectuées sur ces données (mesures d'expression différentielle, enrichissement en termes « GO », etc.) nous ont permis de définir le profil de transcription des gènes chez les deux formes. En affinant la recherche et en se concentrant sur le processus de changement morphologique, en particulier sur un laps de temps de 27 h, nous avons défini que, dans les conditions choisies favorisant la transition de la phase levure à mycélienne, l'expression génique était modifiée dès 2 h après le début de la transition. Par des analyses de regroupement par patrons d'expression ainsi que de réseaux de gènes, nous avons mis en évidence plusieurs gènes pouvant jouer un rôle clé dans la transition de la phase levure à mycélium. Ces gènes constituent des cibles potentielles pour l'induction de mutation de type délétion. Ces dernières faciliteront l'analyse fonctionnelle du rôle des gènes ciblés dans le changement morphologique et amélioreront notre compréhension de l'implication respective de chacune des phases dans la maladie.

Régulation spécifique des clusters botrydial et acide botcinique chez *Botrytis cinerea*

A. Porquier^{1,2}, G. Morgant¹, B. Dalmais¹, A. Simon¹, M. Viaud¹

¹Inra, UMR1290 Bioger, Campus AgroParisTech, 78850 Thiverval-Grignon, France

²Université Paris Sud, 15 Avenue Georges Clémenceau, 91400 Orsay

Botrytis cinerea est l'agent pathogène responsable de la pourriture grise qui touche plus de 200 espèces végétales. Parmi les facteurs de virulence identifiés chez ce champignon ascomycète figurent deux toxines (et leurs dérivés respectifs) ayant un rôle redondant dans la nécrotrophie. Il s'agit du sesquiterpène botrydial (BOT) et du polycétide acide botcinique (BOA). Les gènes responsables de leur synthèse sont agencés en clusters au sein du génome comme dans la plupart des cas pour les gènes du métabolisme secondaire chez les champignons. Des études précédentes ont permis de mettre en évidence la régulation de ces clusters par des voies de transductions conservées de type MAP kinases ainsi que par des facteurs de transcription globaux comme le facteur de transcription calcineurine-dépendant BcCrz1. De plus, un fort lien entre l'expression de ces gènes du métabolisme secondaire et le développement en réponse à la lumière a été démontré chez l'agent de la pourriture grise, notamment par la caractérisation des membres du complexe Velvet BcVel1 et BcLae1. Des données de régulation globale sont donc disponibles pour les gènes Bcbot et Bcboa mais leurs régulateurs directs n'ont pas été caractérisés. D'après de nombreux exemples de la littérature, lorsqu'un gène codant un facteur de transcription se trouve au sein d'un cluster du métabolisme secondaire, la protéine produite régule spécifiquement les gènes du cluster. Parmi les gènes *Bcboa*, *Bcboa13* est prédit pour coder un facteur de transcription de type Zn(II)2Cys6. D'autre part, une nouvelle version du génome de *B. cinerea* a permis de compléter la liste des gènes putatifs du cluster BOT et de mettre en évidence à proximité des gènes *Bcbot1* à 5 un gène (*Bcbot6*) prédit pour coder également un FT de type Zn(II)2Cys6. Dans le cadre de notre étude, la caractérisation fonctionnelle de *BcBot6* et *BcBoa13* est réalisée. Notre hypothèse est que ces facteurs de transcription sont des régulateurs spécifiques de leur cluster. Les données acquises jusqu'ici via la création de mutants et des analyses d'expression par RT-qPCR confirment cette hypothèse. Afin d'étudier la capacité de *BcBot6* et *BcBoa13* d'intervenir dans des interactions directes avec les promoteurs *Bcbot* et *Bcboa*, une approche par simple hybride est actuellement réalisée. Finalement, la banque de facteurs de transcription dont nous disposons sera criblée pour identifier des régulateurs de *Bcbot6* et *Bcboa13* afin de faire le lien avec les cascades d'activation déjà connues.

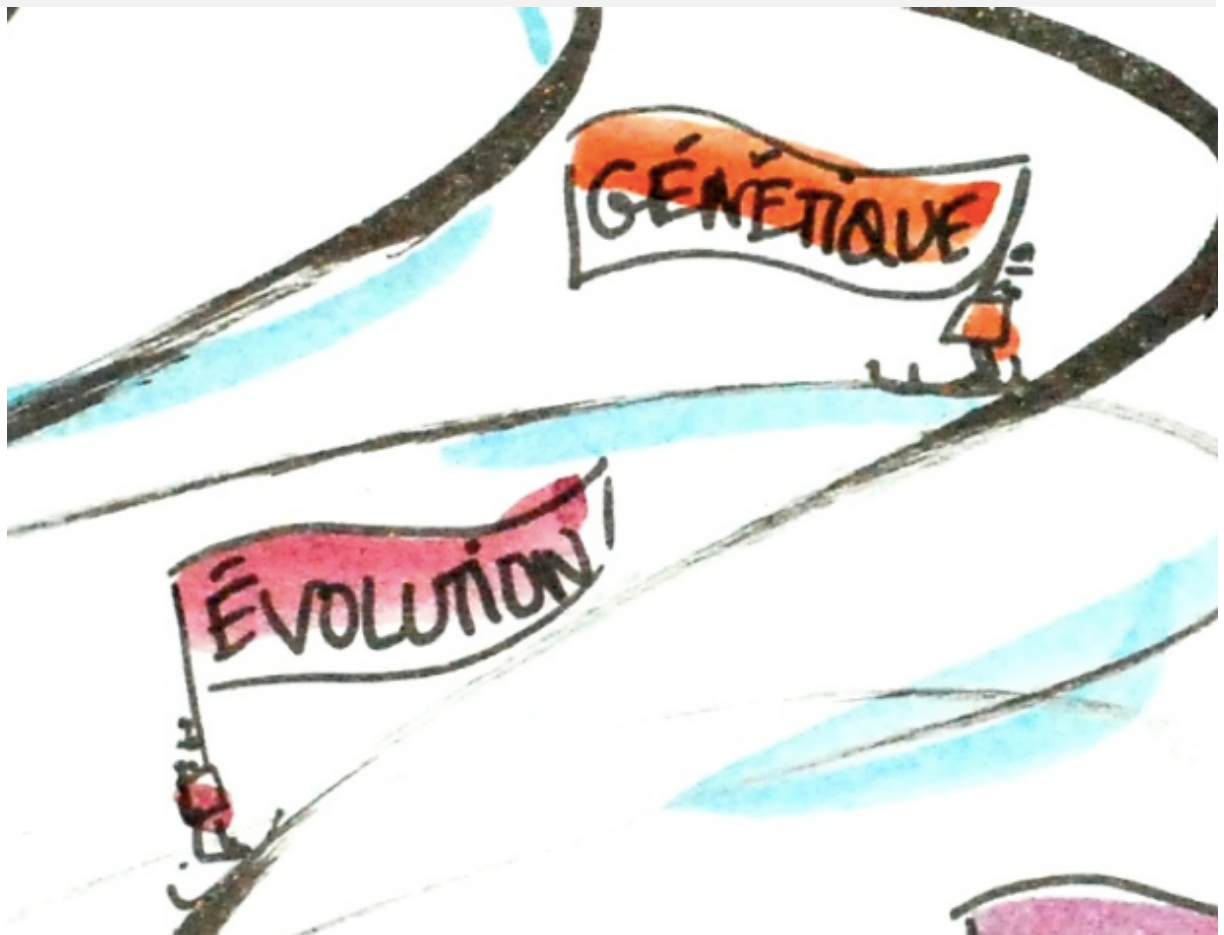
Journées Jean Chevaugéon 2016

RÉSUMÉS DES

POSTERS

Posters

Session 1



Adaptation à l'hôte chez *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre et de la tomate

R. Corbière¹, S. Belkhiter², L. Beninal³, R. Mabon¹, A. Kröner¹, D. Andrivon¹, Z. Bouznad²

¹INRA, UMR1349 IGEPP, Centre de Rennes, BP 35327, 35653 Le Rheu cedex, France

²ENSA (Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie), 16200 El Harrach, Alger, Algérie

³CNCC (Centre National de Contrôle et de Certification des Semences et Plants), El Harrach, Alger, Algérie

L'oomycète *Phytophthora infestans* provoque de graves épidémies sur pomme de terre et sur tomate, entraînant des dégâts considérables pouvant conduire à la perte totale de la culture. En France et en Algérie, ces deux cultures sont économiquement importantes et largement consommées localement. Afin d'élaborer des stratégies durables de gestion de la maladie, il est important i) de connaître la diversité et la structuration des populations de *P. infestans* sur ces deux hôtes et ii) de déterminer leurs relations et l'existence possible d'une spécialisation des isolats selon leur hôte d'origine. Nous avons analysé des isolats de *P. infestans*, prélevés principalement en cultures commerciales de pomme de terre et de tomate de 2007 à 2014, en Algérie et en France. Le génotypage sur 12 loci microsatellites montre qu'il n'existe pas de structuration géographique nette entre les deux pays. Les populations sont clonales, bien que des isolats de types de compatibilité sexuelle opposés (A1 et A2) soient trouvés sur les deux plantes, souvent dans la même parcelle. En revanche, la structure des populations est différente selon la plante. Les isolats collectés sur pomme de terre présentent une faible diversité génotypique, avec quelques lignées clonales dominantes. La lignée EU_13_A2 y est majoritaire, comme en Europe de l'ouest depuis 2007 ; la lignée EU_6_A1, présente en France, semble absente en Algérie ; la lignée EU_2_A1, dominante dans les années 2000 en France mais maintenant minoritaire, est toujours bien présente en Algérie. Sur tomate, la diversité génétique est importante ; les isolats sont essentiellement regroupés en trois clusters majoritaires : EU_23_A1, jamais échantillonné sur pomme de terre ni en France ni en Algérie, un cluster avec des isolats divers, mais non identifiés à ce jour et rarement trouvés sur pomme de terre, excepté sur repousses ; enfin, la lignée EU_2_A1 qui semble ubiquiste. En conditions expérimentales, les isolats prélevés de tomate sont bien pathogènes sur pomme de terre, mais certains sporulent davantage sur feuilles de tomate que sur pomme de terre. Cette étude suggère que dans deux agro-écosystèmes différents, en Algérie et en France, certaines lignées de *P. infestans* présentent une préférence d'hôte pour la pomme de terre ou la tomate. Celle-ci pourrait par ailleurs constituer une plante refuge, abritant des génotypes très diversifiés. Une approche d'évolution expérimentale nous permettra de mieux comprendre l'adaptation des isolats sur ces deux hôtes.

***Phytophthora infestans* : quelle stratégie de vie pour survivre ?**

N. Mariette, **R. Mabon**, C. Piriou, R. Corbière, J. Montarry, D. Andrivon

INRA, UMR Institut de génétique, environnement et protection des plantes (IGEPP), Domaine de la Motte – BP 35327, 35653 LE RHEU Cedex

L'oomycète *Phytophthora infestans*, agent responsable du mildiou, est un des pathogènes les plus dommageables sur pomme de terre. *P. infestans* est une espèce hétérothallique qui a un cycle de vie principalement aérien, comportant une phase épidémique durant la période de culture de l'hôte et une phase de survie entre deux épidémies. Sous un climat tempéré comme en France, *P. infestans* se reproduit de façon clonale et survit sous forme de mycélium sur les tubercules infectés pour constituer l'inoculum primaire l'année suivante. Depuis la fin des années 1990, on observe de fréquents changements dans les populations de *P. infestans*, sans vraiment comprendre les phénomènes associés à ceux-ci. Actuellement en France, deux lignées clonales, EU_6_A1 et EU_13_A2, co-existent majoritairement dans les populations. Elles ont été détectées pour la première fois en 2004-2005 dans le nord de la France. Dès 2007, la lignée EU_13_A2 avait envahi tout le territoire ; elle est également dominante en Europe et s'est propagée mondialement (Algérie, Inde, Chine, ...). En revanche, la lignée EU_6_A1 est devenue prépondérante plus tard, en 2010-2011 et n'est quasiment présente qu'en France et en Grande-Bretagne. L'objectif de ce poster est d'étudier différents traits de vie liés au pouvoir pathogène de ces deux lignées pour comprendre leurs stratégies de vie respectives. Pour cela, 119 souches ont été collectées dans la région de Paimpol (Bretagne) durant l'année 2014. Ces souches ont été génotypées avec 17 marqueurs microsatellites et leur agressivité a été testée en conditions contrôlées, sur folioles détachées d'une variété sensible (Bintje) et de deux variétés partiellement résistantes (Robijn et Möwe). Plusieurs caractères phénotypiques ont été mesurés tels que la taille de la lésion, le taux de sporulation et la taille des spores. Ces données nous ont permis de montrer des différences d'agressivité entre les lignées clonales, EU_6_A1 ayant une plus forte agressivité que EU_13_A2. Nous avons également montré un compromis significatif entre le taux de sporulation et la taille des spores produites. Ce trade-off n'est pas altéré par la résistance de l'hôte. Ces informations peuvent nous fournir des éléments de réponse quant à la stratégie des souches pendant leur phase de survie inter-épidémique et pour mieux comprendre, prédire et gérer les évolutions de populations de ce bioagresseur.

***Ascobolus immersus* as a test tube to unravel truffle sexual reproduction**

F. Malagnac¹, F. Paolocci², F. Carlier¹, V. Contamine¹, A. Kohler³, C. Riccioni², A. Rubini², B. Belfiori², F. Le Tacon³, C. Murat³, F. Martin³

¹UMR 9198, Institute of Integrative Biology of the Cell, Idex Paris-Saclay (CEA, CNRS, Paris Sud University)

²CNR-Institute of Biosciences and Bioresources (IBBR-CNR), Perugia (Italy)

³UMR 1136, Interactions Arbres/Microorganismes, Labex Arbre (INRA, Lorraine University)

The growth of trees in forests is promoted by root colonization by ectomycorrhizal fungi, which assist the trees in nutrient uptake. Most ectomycorrhizal fungi belong to Basidiomycota and Ascomycota and some of them provide also non-wood products of forest such as *Tuber spp.*. These are ecomycorrhizal Ascomycota producing edible fructifications, called truffles upon fertilization between strains of opposite mating type. Truffle formation faces important bottlenecks: the initiation of the sexual reproduction and the growth of ascocarps during a period of several months. It is therefore critical to better understand the mechanisms leading to sexual reproduction such as recognition between compatible strains. Using genomic resources the genes involved in *Tuber melanosporum* (the Périgord black truffle) sexual reproduction have been characterized but their role cannot be verified by genetic approach due to the absence of genetic tools. More generally, genetic tools are lacking for many ecologically and economically important Ascomycota for which genomic resources are or will be soon available. Belonging to the Pezizomycete class, the saprophytic Ascomycete *Ascobolus immersus* is closely related to *T. melanosporum*, also a Pezizomycete. *A. immersus* has been used as model organism for decades: it is easy to grow *in vitro* and its sexual cycle can be completed within two weeks in lab conditions. To propagate itself, as truffle species do, this heterothallic fungus relies on sexual reproduction only. Thus, when two strains of opposite mating type (MAT) encounter each other, female gametes are fertilized by male gametes of the opposite MAT, which leads to the building of the fruiting body. Germination of the produced ascospores gives rise to new generations of fungal individuals. In addition, *A. immersus* can be efficiently transformed and using reverse genetic strategy, several of its genes have already been knocked-out. The aim of our project is to use *A. immersus* as a test tube to address fundamental questions for other Ascomycete species such as truffles. To start with, we will focus on deciphering the truffle genetic mechanisms involved in strains recognition for sexual reproduction. Recently the first genetic transformation of *A. immersus* with promoters of mating type genes from *T. melanosporum* that drive the expression of the GFP gene was realized to gain functional evidence on these regulatory sequences. Overall, the use of *A. immersus* as test tube should lead to the development of new tools to address fundamental issues on life cycle and reproductive biology of un-culturable ascomycetes or ascomycetes that cannot be efficiently transformed.

Genetic architecture of pathogenicity-related life history traits in the poplar rust fungus

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

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

Université de Lorraine, UMR 1136 Interactions Arbres – Microorganismes (IAM), 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

Poplar is an important forestry product in Europe, both for the wood industry and for its contribution to energy production systems. The main threat to the growth of poplar is the poplar rust disease, caused by the basidiomycete *Melampsora larici-populina*. The selection of poplar cultivars expressing qualitative resistance has led to repeated failures since 1980, due to the emergence of new virulence factors resulting in the breakdown of all resistance types. 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. We aim to use a quantitative genetics approach to determine to what extent aggressiveness and dispersal traits are heritable and whether they directly impact the fitness of the pathogen. 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. To this aim, we have chosen a strategy of whole-genome re-sequencing of a S1 progeny derived from selfing of the 98AG31 strain, for which a reference genome is available, organized in 462 scaffolds. A previous 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. Several aggressiveness traits (latency period, infection efficiency, sporulation capacity, lesion size) and morphological traits (spore volume, length/width ratio) exhibited significant variation in this progeny and allowed QTL mapping. The objectives of my PhD project are:

1. To map several avirulence loci and aggressiveness QTLs through re-sequencing of several new progenies obtained from controlled crosses (selfing and outcrossing) of *M. larici-populina* isolates displaying variation for targeted traits.
2. To map qualitative and quantitative traits through a GWAS (Genome-Wide Association Study) approach on field populations of *M. larici-populina*.
3. To study the evolutionary trade-offs between those traits, which can condition the adaptation of *M. larici-populina* to poplar resistances

La première carte génétique à haute densité de *Fusarium graminearum*, construite à partir de données de géotypage haut débit

B. Laurent¹, C. Palaiokostas², C. Spataro¹, M. Moinard¹, **J.M. Savoie**¹, R. Houston², M. Foulongne-Oriol¹

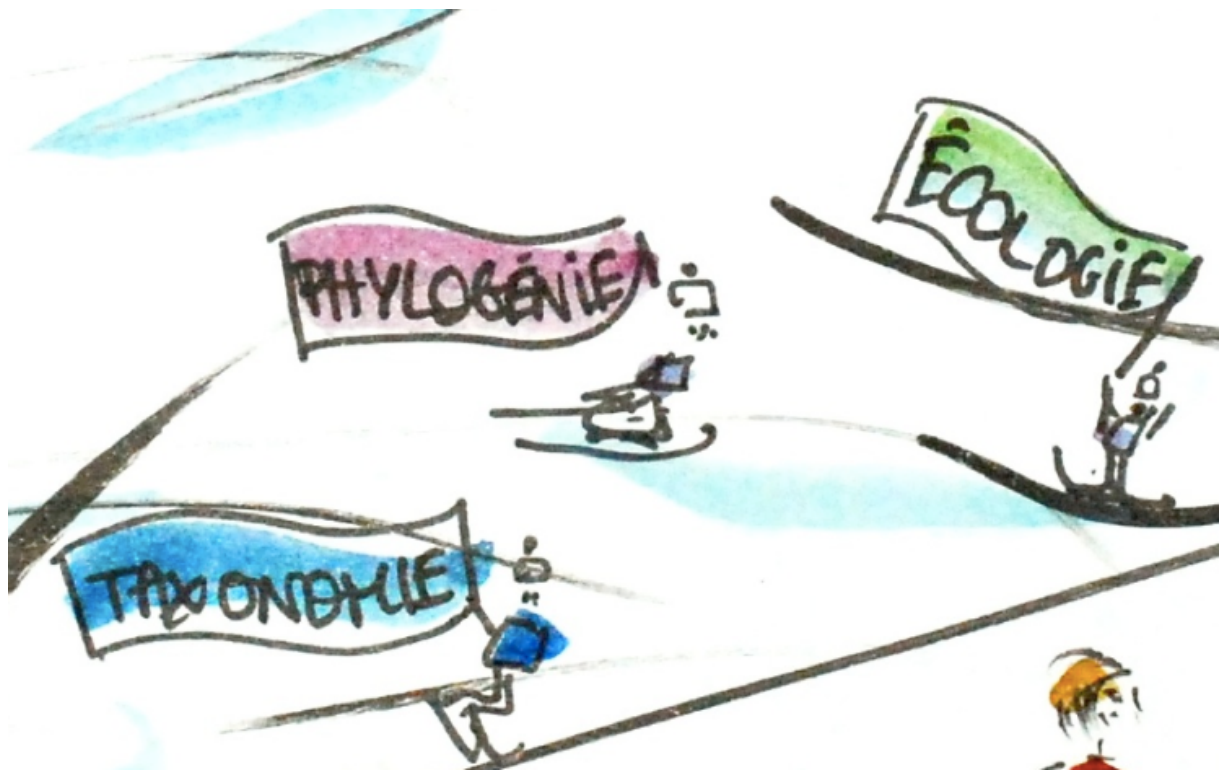
¹INRA UR1264 MycSA, Mycologie et Sécurité des Aliments, Villenave d'Ornon, France

²The Roslin Institute, University of Edinburgh, Midlothian EH25 9RG, Scotland, UK

L'ascomycète *Fusarium graminearum* est l'agent principal de la fusariose des épis, maladie affectant la plupart des cultures céréalières mondiales. Les infections de fusarioses amènent à une diminution des rendements et surtout à la contamination des grains en mycotoxines. L'occurrence de ces métabolites fongiques toxiques est contrôlée et soumise à des seuils réglementaires dans l'alimentation. Ne pouvant dégrader facilement ces mycotoxines par des procédés post-récolte, le levier majoritaire de lutte reste le contrôle de la maladie au champ. De nombreux efforts ont été consacrés à l'élaboration de variétés de céréales résistantes à la fusariose et de moyens de contrôle du champignon. Cependant aucune variété totalement résistante n'a été commercialisée à ce jour et les épidémies de fusariose sévissent toujours malgré l'emploi de fongicides et l'optimisation des pratiques culturales. Les difficultés rencontrées par les sélectionneurs et les agronomes s'expliquent notamment par la complexité de l'interaction entre *F. graminearum* et son hôte. De nouvelles connaissances et outils sont donc nécessaires pour mieux comprendre la biologie propre du pathogène et ses capacités adaptatives, afin d'augmenter l'efficacité de lutte. En appui aux nombreuses ressources disponibles à ce jour, nous proposons aujourd'hui la première carte génétique à haute densité de cette espèce. Le géotypage par séquençage (RAD-seq) d'une population de 91 individus issus du croisement de deux souches de *F. graminearum*, a permis d'identifier 1373 marqueurs dont 517 informatifs. La carte, d'une taille finale de 1526 cM, est composée de quatre groupes de liaisons pour autant de chromosomes. La distance entre chaque marqueur informatif est en moyenne de 85 kb. La distribution des crossing-overs le long des différents chromosomes confirme la présence de points chauds de recombinaison. Ces points chauds co-localisent avec des zones de grande variabilité génétique, de régulation épigénétique, et enrichies en gènes ayant un rôle démontré ou prédit dans l'interaction avec la plante. Ces données illustrent le fort potentiel adaptatif du champignon. Cette carte génétique constitue de plus, un outil pour l'identification des éléments génétiques impliqués dans les variations des nombreux caractères phénotypiques de *F. graminearum* observées dans notre population expérimentale, comme l'agressivité *in planta*, la production de mycotoxines ou la production d'inoculum.

Posters

Session 2



Écologie des *Phytophthora* en forêts néo-tropicales

J. Legeay^{1,2}, C. Husson^{1,2}, B. Boudier^{1,2}, M. Buée^{1,2}, B. Marçais^{1,2}, C. Baraloto³,
H. Schimann³, E. Louisanna³

¹INRA, Université de Lorraine, UMR 1136 Interactions Arbres – Microorganismes (Iam), 54280 Champenoux, France

²Université de Lorraine, UMR 1136 Interactions Arbres – Microorganismes (Iam), 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

³INRA, UMR ECOFOG, 97310 Kourou, Guyane française, France, & Laboratoire d'excellence CEBA, Cayenne, Guyane française, France

Les forêts tropicales présentent une très forte diversité végétale ; toutefois les facteurs régissant la composition des communautés d'arbres restent peu connus. Les ennemis naturels des arbres (herbivores et pathogènes) sont fortement suspectés d'avoir une influence majeure sur la distribution des espèces d'arbres, et ce d'autant plus qu'il existe une forte diversité microbienne, encore largement inexplorée, en milieu tropical humide. Cette thèse se propose d'étudier la diversité d'un genre particulier de pathogènes des arbres, les *Phytophthora*, et de déterminer si elle interagit avec la diversité des arbres dans les forêts tropicales. Le principal moyen d'étudier cette diversité sera une approche métagénomique pratiquée sur des sols provenant de diverses forêts d'Amérique du Sud. Afin de valider cette approche, une étude comparative préalable entre les diversités observées en passant par des techniques de piégeage et de culture sur milieu artificiel, ou en s'en affranchissant, sera effectuée sur des échantillons provenant de deux sites de Guyane.

The organization and evolution of glycolysis among oomycetes: duplications and signatures of functional diversification within *Phytophthora* spp.

F. Panabières, M.L. Kuhn, J.Y. Le Berre

UMR Institut Sophia Agrobiotech – ISA: Institut National de la Recherche Agronomique 1355, Centre National de la Recherche Scientifique 7254, Université de Nice-Sophia Antipolis, Sophia Antipolis, France

Oomycetes are part of the Stramenopiles and the controversial supergroup Chromalveolates. They include the genus *Phytophthora*, which is considered one of the most destructive plant pathogen responsible of huge losses in agriculture and environment worldwide. The genus *Phytophthora* encompasses ~ 130 species that greatly vary in ecology, biology, pathogenicity and host range. *Phytophthora* spp. are hemibiotrophic pathogens: they first establish an intimate contact with living host cells before inducing host cell death and development in dead tissues. To ensure plant invasion, the pathogen needs to adapt to the nutrient availability in the host, and to nutritional changes occurring during the course of infection. In addition, *Phytophthora* spp. can be easily cultured on a range of artificial media. It implies robust adaptive mechanisms to optimize nutrient acquisition from either living or dead plant cells, as well as sophisticated metabolic adjustments to fulfill the nutritional requirements in a wide range of environmental conditions. We intended to investigate the molecular bases of adaptation of *Phytophthora* spp. to nutrient availability with an initial analysis of genes associated to glycolysis. Exploration of genome sequences and comparative genomics revealed that *Phytophthora*, and, to a wider extent, pathogenic oomycetes, possess an alternative, glycolytic pathway similar to that encountered in several amitochondriate, parasitic protists. Nearly all steps are committed by enzymes encoded by multigene families. Sequence divergence led to a possible diversification of subcellular location of these enzymes. In addition, alternate, redundant enzymatic pathways were encountered in *Phytophthora* spp. We further focused our analysis to *P. parasitica*, a soilborne pathogen able to infect hundreds of woody and herbaceous plants, and to survive in a variety of environmental conditions. Biochemical and transcriptome analyses reveal possible cases of functional divergence in multigene families associated to glycolysis in this species. Together, our results suggest that the combination of gene duplication followed by sequence divergence, diversification of expression patterns and possible acquisition of novel functions may shape the metabolic flexibility of *Phytophthora* spp. and participate to the adaptation to their environment.

Contrôle biologique du « ver blanc » *Hoplochelus marginalis* à La Réunion : distribution du myco-insecticide *Beauveria hoplocheli* dans la sole cannière

L. Costet¹, C. Rohrllich^{1,2,3}, I. Robène-Soustrade¹, M. Payet-Hoarau¹, S. Nibouche¹

¹ CIRAD, UMR PVBMT, F-97410 Saint-Pierre, La Réunion, France

² BETEL-Réunion, F-97470 Saint-Benoit, La Réunion, France

³ Université de la Réunion, UMR PVBMT, F-97400 Saint-Denis, La Réunion, France

Hoplochelus marginalis Fairmaire (Coleoptera : Melolonthidae), endémique de Madagascar, a été introduit dans les années soixante-dix à l'île de la Réunion, où ce « ver blanc » est rapidement devenu un ravageur majeur de la canne à sucre (60 % de la SAU). Le champignon entomopathogène *Beauveria hoplocheli* (Ascomycota : Hypocreales) a été isolé à partir de *H. marginalis* à Madagascar et introduit à la Réunion dès 1987. Depuis 1996, un produit commercial (Betel®) à base de ce champignon est appliqué en traitement du sol lors la replantation de la canne à sucre. Les objectifs de ces travaux étaient i/ d'évaluer une nouvelle méthode de détection moléculaire à partir d'extrait d'ADN total de sol en la comparant à la méthode de référence du « *Galleria* bait » basée sur un piégeage des entomopathogènes du sol par mise en contact avec des chenilles de *Galleria mellonella* et ii/ d'évaluer la distribution de *B. hoplocheli* dans la sole cannière réunionnaise. Quatre-vingt-quinze parcelles réparties dans la sole cannière réunionnaise ont été échantillonnées en 2007 à raison de 20 échantillons de sol par parcelle. L'effet de l'environnement (type de sol, altitude, précipitations, zones géographiques) sur la prévalence de *B. hoplocheli* parmi les 95 parcelles et le taux d'échantillons de sol positifs par parcelle ont été modélisés à l'aide d'une régression logistique. Les résultats révèlent que, parmi les 22 parcelles où ont été réalisés l'extraction d'ADN de sol et le « *Galleria* bait », la proportion de parcelles positives et le nombre moyen d'échantillons positifs pour *B. hoplocheli* par parcelle ne diffèrent pas significativement entre les deux méthodes. *Beauveria hoplocheli* a été détecté dans 81,05 % des 95 parcelles échantillonnées par PCR sur ADN de sol ou par la méthode « *Galleria* bait ». Aucun effet significatif de la zone, de l'altitude, du type de sol ou de la pluviosité annuelle totale n'a été mis en évidence sur la proportion de parcelles positives. Par contre, le taux d'échantillons positifs par parcelle augmente significativement avec l'altitude ($P = 0,002$). En conclusion, i/ l'extraction d'ADN total de sol donne des résultats similaires à la méthode de référence « *Galleria* bait » tout en étant plus rapide et moins coûteuse ii/ après 20 ans de lutte biologique *B. hoplocheli* est détectable dans la majorité des parcelles de canne à sucre.

Posters

Session 3



Développement d'un phytotron « très basse consommation énergétique » et son application à l'évaluation du pouvoir pathogène

J.-F. Bourgeay, M. Bardin, J.-M. Bastien, M. Duffaud, F. Pascal, P.C. Nicot, C. Troulet, C.E. Morris

INRA, UR 407 Pathologie végétale, Domaine St Maurice, 84140 Montfavet, France

Dans le cadre des démarches de Développement Durable et d'Assurance Qualité de l'INRA, l'UR0407 a mis en place un projet de rénovation de ses chambres de culture relativement anciennes et très consommatrices d'énergie. La consommation énergétique de ces chambres est générée par un éclairage basé sur des néons qui consomment 1600 W/h/m² en éclairage et 400 W/h/m² supplémentaires pour leur refroidissement en raison du dégagement de chaleur par les lumières. Le but du projet était de créer un prototype de phytotron qui réduise la consommation énergétique de 90 % en couplant un mode d'éclairage et un système de refroidissement et de chauffage les plus efficaces et économes possible. Pour l'éclairage, le choix des LED s'est imposé pour leur faible consommation énergétique et leur excellent rendement. Cette réalisation a été couplée à la création d'un groupe de refroidissement centralisé à eau glycolée avec stockage de froid en changement d'état, et stockage d'eau chaude. La production de froid est soit utilisée directement, soit stockée pour une utilisation ultérieure. Elle est dimensionnée pour pouvoir alimenter jusqu'à 100 m² de futurs phytotrons. Ces chambres devant abriter des plantes sur lesquelles sont réalisés des tests de pouvoir pathogène (champignon, bactérie, virus), les sources de lumière LED ont été caractérisées afin de les comparer à celles des chambres classiques, d'étudier leur vieillissement et d'établir un bilan énergétique. De plus, la qualité de la croissance des plantes et le déroulement des épidémies dans les phytotrons LED ont été évalués. C'est une étape clé pour la validation de ces nouvelles chambres climatiques. Les premiers résultats montrent qu'il n'y a pas de différences d'intensité d'épidémie entre les chambres LED et les chambres classiques lorsqu'on inocule des plants de tomate avec des souches très agressives de *Botrytis cinerea* ou lorsqu'on réalise des inoculations de melon avec *Pseudomonas syringae*. Le résultat est similaire lorsqu'on mesure le pouvoir protecteur d'un agent de lutte biologique microbien contre *B. cinerea*. En revanche, on observe de petites différences pour des souches de *B. cinerea* peu agressives et lorsqu'on réalise des inoculations avec *Oidium neolycopersici*. Dans ces cas de figure la pourriture grise est plus importante dans la chambre classique avec néons alors que l'oïdium est plus développé dans la chambre LED. L'ajustement de l'intensité de lumière des LED afin d'obtenir la même qualité de résultats avec les nouvelles chambres qu'avec les anciennes chambres est en cours.

Le projet européen « EUCLID » : *Leveraging IPM for sustainable production of fruit and vegetable crops in partnership with China*

J.-F. Bourgeay¹, M. Bardin¹, M. Duffaud¹, C. Lacroix¹, C. Leyronas¹, C. Morris¹, P. Nicot¹, C. Troulet¹, N. Desneux²

¹INRA, UR 407 Pathologie végétale, Equipe MISTRAL, Domaine St Maurice, 84140 Montfavet, France

²INRA, UMR 1355, ISA, 400 Route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France

EUCLID est un projet financé dans le contexte des appels à recherche européens H2020 ayant pour objectif d'assurer une production alimentaire durable en réponse à une forte augmentation de la population mondiale. EUCLID est coordonné par l'INRA et regroupe 19 partenaires de la recherche publique et d'entreprises privées (15 représentants, six pays de l'Union européenne et quatre partenaires chinois). Il a démarré en septembre 2015 pour une durée de quatre ans. Le projet exploitera les connaissances développées récemment et explorera de nouvelles méthodes de protection intégrée pour fournir des stratégies de gestion de la santé des plantes. Ce projet se focalisera sur une gamme de bioagresseurs et ravageurs de quelques cultures importantes et emblématiques en Europe et en Chine. Les cultures ciblées incluent la production de tomates, de légumes feuilles, et de raisin de table et de cuve au sein de différents systèmes de production. En tant que partenaire du projet, l'équipe MISTRAL à l'INRA-PACA apportera son expérience dans le développement d'agents de lutte biologique contre les maladies des cultures fruitières et maraîchères et dans l'élucidation de traits d'histoire de vie et de processus écologiques et évolutifs. Ceux-ci peuvent être exploités pour développer de nouveaux moyens de gestion de la santé des plantes qui sont compatibles avec l'agriculture durable et les principes agro-écologiques. Nous présenterons les objectifs et les tâches d'EUCLID, ainsi que les travaux qui seront conduits par l'équipe Mistral pour la gestion des maladies fongiques et bactériennes des cultures modèles du projet.

Influence du microclimat sur l'installation de *Phytophthora megakarya* dans des cacaoyères exemptes d'auto-inoculum

M.M. Djeumekop Ndoungué^{1,2}, G.M. ten Hoopen³, C. Neema²

¹IRAD, BP 2123, Yaoundé, Cameroun

²CIRAD, UMR BGPI, 34398 Montpellier cedex 5

³CIRAD, UPR Bioagresseurs, 34398 Montpellier cedex 5

L'installation de parcelles cacaoyères en 2006 sur des terrains dépourvus d'auto-inoculum de *Phytophthora megakarya*, principal agent pathogène du cacaoyer au Cameroun, permet d'étudier les mécanismes d'introduction et d'installation de l'allo-inoculum. Identifier les facteurs qui déterminent l'installation, la répartition et l'évolution de la pourriture brune au sein des parcelles permettrait de développer des stratégies de lutte durable. L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact du microclimat sur la dynamique épidémique spatio-temporelle. Quatre parcelles installées dans la Région du Centre-Cameroun, une dans la zone de forêt (Ngat) et trois dans la zone de transition forêt-savane (Bokito) ont été suivies depuis 2009. La prévalence de cabosses infectées a été notée chaque semaine et les capteurs d'humidité ont été utilisés pour enregistrer la température et l'humidité ambiante. Le succès d'installation de la maladie s'est traduit par l'augmentation croissante du nombre de cacaoyers infectés par année. La répartition spatiale des principaux sites d'infection dans les parcelles expérimentales est influencée par le microclimat. L'humidité relative et les fluctuations journalières enregistrées étaient plus élevées (93,1 % et 9,84 %) dans les zones infectées comparativement à celles des zones non infectées (88,4 % et 7,7 %), tandis que la température moyenne dans toutes les zones était autour de 23 °C. L'implication de nos résultats pour la lutte intégrée est discutée.

Les petits tubercules survivent-ils moins bien que les gros pendant l'hiver ?

C. Pasco, B. Marquer, J. Montarry, D. Andrivon

INRA, UMR 1349 IGEPP, Domaine de la Motte, BP 35327, F-35653 Le Rheu Cedex, France

Les repousses à partir de tubercules laissés au champ ou empilés en bord de parcelle sont la principale forme de conservation de *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre, dans les régions à climat océanique. Sur les neuf dernières années, l'épidémie de mildiou de 2014 arrive en deuxième position d'intensité derrière celle de 2007. Elle prend sa source dans un hiver extrêmement doux et humide. La survie hivernale des tubercules conditionne donc la répartition et l'intensité des premières attaques. Il y a transmission inter-épidémique lorsque les tubercules infectés germent et produisent au moins une tige porteuse d'un inoculum viable. La proportion de tubercules infectés pouvant produire des tiges malades est généralement faible (souvent inférieure à 10 %) et varie suivant les saisons et la variété. Lors de travaux antérieurs, nous n'avons pas pu mettre en évidence une relation entre survie hivernale et niveau d'agressivité des souches. Néanmoins, nous avons montré que les souches de *P. infestans* les plus agressives souffraient d'un déficit de transmission entre années. En effet, elles tendent à réduire la taille des tubercules malades et à les infecter plus sévèrement, ce qui réduit leur capacité à survivre tout un hiver sans pourrir entièrement. En outre, ces isolats les plus agressifs tuent rapidement les jeunes bourgeons, ce qui limite le nombre de tiges malades produites au printemps. Les différences sont particulièrement nettes sur les variétés les plus sensibles. L'objet de notre étude est de tester l'effet du calibre des tubercules (infectés ou sains) de pomme de terre sur leur capacité de survie hivernale au champ. Nous avons donc inoculé deux calibres de tubercules (28/35 et 45/50 mm) de deux variétés de pommes de terre (Bintje, sensible, et Désirée, partiellement résistante) avec deux souches de *P. infestans* d'agressivité différente. Nous avons également testé deux méthodes d'enfouissement (répartition en tas avec deux profondeurs d'enfouissement ou plantation directe à la planteuse), simulant des survies en tas de déchets ou en repousses isolées. La croissance végétative est suivie pendant l'hiver et le nombre de tubercules pourris est évalué en avril. L'hypothèse formulée est que les petits tubercules survivent moins bien que les gros. Nous souhaitons aussi vérifier si la profondeur d'enfouissement est un critère important dans la survie des tubercules pendant l'hiver. Nos résultats montrent que :

- les tubercules infectés émettent des tiges plus précocement que les tubercules témoins ;
- l'infection de tubercules de gros calibre, quelle que soit la souche, conduit à un nombre plus élevé de tiges émergentes que pour le petit calibre. ;
- le taux de survie (exprimé en % de tubercules germés) est plus élevé pour les tubercules témoins que pour les tubercules infectés, plus élevé pour les gros calibres, plus élevé avec la souche qui produit le plus de spores et plus élevé aussi pour les tubercules situés dans le bas du tas ;
- Aucune tige malade n'a été observée durant l'hiver. Cependant, des symptômes de mildiou ont été observés sur des petits tubercules fils, démontrant qu'il y a bien eu transmission.

Les frênes peu affectés par la chalarose présentent une tolérance plutôt qu'une résistance à *Hymenoscyphus fraxineus*

B. Marçais, C. Husson

INRA UMR 1136 Interactions Arbre Micro-organismes, Route d'Amance, Champenoux, France

La chalarose est une maladie invasive affectant fortement la frênaie européenne ces 15 dernières années. Il s'agit d'une maladie présentant un cycle classique de maladie foliaire; toutefois, l'agent pathogène est capable de passer des feuilles aux rameaux en fin de saison, ce qui génère la majeure partie de l'impact sur l'hôte. Il a été montré qu'une résistance héritable à cet agent pathogène était présente dans la population européennes de frênes, quelques pour cent des individus montrant même une absence de symptômes de dépérissement en forte pression d'inoculum. Le travail s'est attaché à comparer dans des régénérations de frêne des individus non atteints par la chalarose et des individus fortement dépérissants. Leur niveau d'infection foliaire, la capacité de l'agent pathogène à boucler son cycle sur ces individus et la probabilité de passage des feuilles aux tiges ont été déterminés. Nous montrons que les individus non atteints par la chalarose présentent des niveaux d'infection foliaire et des pourcentages de rachis permettant la fructification de *H. fraxineus* équivalent aux individus fortement dépérissants, mais une probabilité d'infection de rameaux beaucoup plus faible. Ils présentent donc une fitness nettement supérieure sans réduire celle de l'agent pathogène et se comportent en porteurs sains. Les conséquences pour l'épidémie et pour la durabilité de la tolérance sont discutées.

Posters

Session 4



Identification de régulateurs de la potentialisation de défense salicylate-dépendante chez *Arabidopsis*

V. Allasia, M. Ponchet, F. Panabières, H. Keller

INRA, Université Nice Sophia Antipolis, CNRS, UMR 1355-7254 Institut Sophia Agrobiotech, 06900 Sophia Antipolis, France

Les glycosyltransférases végétales (UGTs) catalysent le transfert d'un monosaccharide depuis un donneur activé vers un accepteur, formant une liaison glycosidique. La glycosylation de métabolites secondaires impliqués dans les réponses aux stress biotiques et abiotiques peut activer ou inactiver ces composés et modifier leur propriété physique et ainsi leur compartimentalisation cellulaire. Nos études sur l'interaction entre *Arabidopsis thaliana* et l'oomycète biotrophe obligatoire *Hyaloperonospora arabidopsidis* (*Hpa*) ont permis d'identifier l'UGT76B1 dont le gène est surexprimé au cours de l'infection. La mutation du gène conduit à une réduction de la sensibilité des plantes au mildiou, tandis que sa surexpression stimule le développement de la maladie. Lors de l'interaction entre la plante et *Hpa*, l'UGT76B1 assure l'homéostasie cellulaire entre la forme active de l'hormone de défense de l'acide salicylique (SA) cytoplasmique et la forme inactive acide salicylique glucosylé (SAG) vacuolaire. En l'absence d'infection, les plantes mutantes présentent un phénotype normal et ne sont pas altérées dans leur système immunitaire. L'infection par *Hpa* conduit à une accumulation plus importante de SA cytoplasmique chez le mutant *ugt76B1* et à une stimulation plus rapide et plus intense des défenses SA-dépendantes. Les plantes mutantes se trouvent dans un état de potentialisation des défenses. *Hpa* activerait l'UGT76B1 pour éviter la mise en place de l'état d'alerte de la plante. Pour identifier des régulateurs de la potentialisation UGT76B1-dépendante, nous avons effectué une comparaison du transcriptome global entre plantes sauvages et mutantes. Elle a permis d'identifier un gène codant pour la lipase extracellulaire EXL4 dont l'expression est réprimée chez les plantes sauvages, mais activée chez le mutant *ugt76B1*. Nos analyses fonctionnelles montrent une localisation vacuolaire d'EXL4 et suggèrent que l'UGT76B1 et EXL4 régulent de façon antagoniste l'homéostasie cellulaire de l'hormone de défense SA.

The *Brachypodium* cytochrome P450 CYP711A29 is involved in FHB resistance but not deoxynivalenol detoxification

V. Changenet¹, J.C. Pasquet¹, C. Macadre¹, H. Renault², D. Werck-Reichhart², M. Dufresne¹

¹Institute of Plant Sciences Paris-Saclay IPS2, CNRS, INRA, Univ Paris Sud, Univ Evry, Univ Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Université Paris-Saclay, Rue de Noetzlin, 91405 Orsay, France

²Institut de Biologie Moléculaire des Plantes IBMP, CNRS, Université de Strasbourg, 28 Rue Goethe, 67083 Strasbourg, France

Fusarium Head Blight (FHB) is a major wheat disease mostly caused by *Fusarium graminearum*. During *in planta* development, the fungus produces mycotoxins, which are harmful to human and animal consuming infected wheat. Mycotoxins are of different nature but mostly belong to type B trichothecens, including deoxynivalenol (DON), with important protein synthesis inhibitory activity. Nowadays, no specific resistance against FHB could be detected in wheat but many quantitative trait loci (QTL) have been identified and some of them were correlated with the ability to detoxify DON. The use of the small cereal *Brachypodium distachyon* allowed the team to identify a UDP-glycosyltransferase (UGT), Bradi5g03300, with the ability to conjugate DON into DON-3-O-glucose *in planta*, which is correlated with increased tolerance to the toxin and increased resistance to FHB in lines overexpressing this gene. To go further in mycotoxin detoxification mechanisms, the team identified one cytochrome P450 (CYP), CYP711A29, because of its high induction by the toxin application and by a toxin-producing *F. graminearum* strain infection. Interestingly, CYP711A29 shows a clear phylogenetic relatedness with the *A. thaliana* CYP MAX1, which is involved in strigolactone biosynthesis. Using over-expressing lines, we showed that CYP711A29 is involved in FHB resistance but not in mycotoxin tolerance. Our results suggest that other mechanisms might be responsible for resistance against FHB and that they may involve strigolactones.

Impact de la mycorhization à arbuscule en viticulture

A. Drain¹, D. van Tuinen¹, S. Trouvelot², L. Bonneau², S. Roy³, M. Adrian², D. Wipf²

¹INRA, UMR 1347 Agroécologie, 17 rue Sully, 21000 Dijon, France

²Université de Bourgogne Franche-Comté, UMR 1347 Agroécologie, 17 rue Sully, 21000 Dijon, France

³Agronutrition Laboratoire de Biotechnologies, 436 rue Pierre et Marie Curie, 31670 Labège

La France étant le premier pays producteur de vin au monde la filière viticole représente un enjeu économique majeur. Compte tenu de l'absence de solutions face à des fléaux tels que les maladies cryptogamiques, il apparaît important de revenir aux fondamentaux pour préserver la culture de la vigne. Ainsi, une meilleure prise en considération de la physiologie de la plante paraît inéluctable dans nos recherches. Il s'agit de revenir aux mécanismes de base pour comprendre les réactions de la plante face aux différents bioagresseurs afin d'espérer pouvoir agir de façon naturelle pour l'aider à renforcer ses systèmes de défense. L'utilisation de microorganismes qui agissent naturellement sur le fonctionnement de la plante en quantités infimes s'avère être une piste de travail intéressante. Les mycorhizes sont des symbioses bénéfiques qui s'instaurent entre les racines de plantes et certains champignons du sol. Elles concernent plus de 95 % des plantes terrestres dont la plupart sont des plantes agricoles et horticoles. Développées par les plantes depuis plusieurs millions d'années, les associations mycorhiziennes donnent un meilleur accès aux éléments nutritifs du sol et aident les plantes à mieux résister aux stress environnementaux (sécheresse, salinité, attaque par des agents pathogènes...) de façon naturelle. Les champignons mycorhizogènes entrent en symbiose avec les cellules de la plante, ce qui modifie considérablement les relations de la racine avec le sol et augmente (grâce aux hyphes extraradiculaires du champignon) sa surface d'exploration : on estime que le volume de sol exploité par la plante est multiplié par 1000 grâce aux mycorhizes. Ce phénomène permet à la plante d'absorber de façon optimale les nutriments du sol (principalement phosphore, azote et oligoéléments) et de l'eau. Il en résulte une amélioration de la qualité et du rendement des cultures. Les réponses des plantes à une association avec un champignon peuvent être modulées par la souche impliquée. La diversité des champignons mycorhizogènes en parcelle est très mal connue et peut être déterminante dans la compréhension du choix du partenaire et des services écosystémiques rendus. Les premiers résultats sont en cours d'obtention et pourraient permettre, dans un premier temps, de corréler les différentes populations de champignons mycorhizogènes (par analyses moléculaires), aux taux de mycorhization (par analyses histochimiques, colorations) et/ou aux caractéristiques physico-chimiques de divers sols / pratiques culturales du vignoble bordelais. Dans un second temps l'efficacité des réactions de défense des vignes mycorhizées ou non seront analysées en réponse à un traitement par l'agent pathogène du mildiou.

High-throughput gene-expression quantification of the grapevine defense responses in the field using Microfluidics Dynamic Arrays

M.C. Dufour¹, N. Magnin¹, B. Dumas^{2,3}, S. Vergnes^{2,3}, M.F. Corio-Costet¹

¹ INRA, UMR Santé et Agroécologie du vignoble (SAVE-1065), CS 20032, ISVV, 33882 Villenave d'Ornon cedex, France

² Université de Toulouse, UPS, UMR 5546, Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, BP 42617 Auzeville, 31326 Castanet-Tolosan, France

³ CNRS, UMR 5546, BP 42617, 31326 Castanet-Tolosan, France

La mise en place de méthodes de lutte innovantes pour la gestion des ravageurs de la vigne faisant appel à des stimulateurs de défense des plantes (SDP), associées ou non à d'autres méthodes de lutte alternatives (lutte biologique ou la sélection végétale) nécessite un suivi spatio-temporel du statut de défense de la vigne, actuellement lourd et fastidieux. Nous avons développé un outil haut débit d'avant-garde basé sur une technologie de microcircuits fluidiques intégrés (Biomark HD®) associée à une méthode de qRT-PCR (profil d'expression génique) : la puce "NeoViGen96". Cette nouvelle puce, plus complète que "BioMolChem", nous permet de surveiller le niveau d'un ensemble de gènes de défense sélectionnés qui couvrent largement les différents moyens de défense décrits chez la vigne (la transduction du signal SA, JA / ET-dépendante, la synthèse de PR-protéines, la production de phytoalexines et le renforcement de la paroi cellulaire). La puce "NeoVigen96" a été utilisée pour évaluer l'efficacité d'inducteurs potentiels sur des cultivars sensibles et sur des hybrides de vigne partiellement ou totalement résistants à l'oïdium (*Erysiphe necator*) et au mildiou (*Plasmopara viticola*), en conditions contrôlées, mais aussi dans des expériences de terrain. Avec cet outil développé, nous avons montré qu'il est possible de mieux comprendre comment la vigne répond à une élicitation dans des conditions naturelles. Maintenant, il est possible d'explorer et d'exploiter le potentiel des SDP avec leur intégration dans des programmes novateurs de lutte, soit en association ou en alternance avec des fongicides mais également en association avec des cépages partiellement résistants et nous permettre d'atteindre l'objectif du plan Ecophyto de réduction des intrants chimiques.

Detoxification of mycotoxins: a source of resistance to *Fusarium* head blight in cereals, from *Brachypodium distachyon* to bread wheat

M. Gatti¹, P. Leroy², F. Cambon², H. Renault², C. Tassy², T. Langin², M. Dufresne¹

¹Institute of Plant Sciences Paris-Saclay IPS2, CNRS, INRA, Univ Paris Sud, Univ Evry, Univ Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cite, Université Paris-Saclay, Rue de Noetzlin, 91405 Orsay, France

²Unité Génétique Diversité et Ecophysiologie des Céréales, INRA, UMR1095, 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), which 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 detoxification 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 *Fusarium* Head Blight. 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 Apogée, 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.

Vers une agriculture plus durable, les champignons mycorhiziens à arbuscules protègent le blé contre l'oïdium

A. Lounès-Hadj Sahraoui, G. Mustafa, N.G. Khong, B. Tisserant, B. Randoux, J. Fontaine, M. Magnin-Robert, P. Reignault

Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV). Université du Littoral Côte d'Opale, 50, rue Ferdinand Buisson, 62228 Calais cedex, France

L'utilisation des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) pourrait constituer une alternative potentielle aux traitements fongicides conventionnels pour lutter contre les maladies cryptogamiques des plantes. Notre travail a consisté à étudier l'éventuel effet protecteur de la mycorhization arbusculaire chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) contre *Blumeria graminis f. sp. tritici* (*Bgt*), un champignon biotrophe responsable de l'oïdium, une maladie affectant les parties aériennes de la plante. L'inoculation mycorhizienne du blé avec le CMA *Funneliformis mosseae* (*Fm*), en conditions contrôlées et optimisées, nous a permis d'obtenir parallèlement à un taux de mycorhization de 38 % des plants de blé, une amélioration significative de la biomasse et un taux de protection contre *Bgt* estimé à 78 %. Ces résultats suggèrent l'induction d'une résistance systémique des réactions de défense du blé par mycorhization (Mycorrhiza-Induced Resistance, MIR). Cette protection serait liée à une accumulation de composés phénoliques et de peroxyde d'hydrogène dans les cellules épidermiques des feuilles de blé mycorhizé, au niveau du site de pénétration de *Bgt*. Une surexpression des gènes *POX*, *PAL*, *CHI1* et *NPR1* codant pour des marqueurs de défense a également été mise en évidence dans les feuilles en absence d'infection par *Bgt*. Enfin, nos travaux ont également souligné l'intégration de divers paramètres pour optimiser l'utilisation des CMA comme agents de biocontrôle chez le blé. La meilleure protection contre l'oïdium a été obtenue avec un apport en phosphore réduit de cinq fois par rapport à celui préconisé au champ et un inoculum mycorhizien à base de *Fm*, que ce soit chez un cultivar modérément sensible ou un cultivar plus résistant.

Impact d'une inoculation par *Alternaria dauci* et d'un double stress sur le métabolisme des caroténoïdes dans les feuilles et racines de carotte

F. Perrin¹, C. Dubois-Laurent², S. Huet², D. Peltier¹, E. Geoffriau², S. Gagné²

¹IRHS Université d'Angers, 42 rue Geroges Morel, 49071 Beaucouzé, France

²IRHS Agrocampus Ouest, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé, France

Les facteurs environnementaux affectent la croissance et le rendement mais aussi les qualités nutritionnelle et organoleptique des productions végétales. Ces facteurs peuvent être soit biotiques (virus, champignons, bactéries) soit abiotiques (lumière, température, eau). Des travaux ont permis de mettre en évidence l'impact de ces différents stress sur des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, polyamines et anthocyanes. Parmi les métabolites secondaires, les caroténoïdes présentent un intérêt particulier car ils sont impliqués dans la photoprotection, participent à la photosynthèse et sont les précurseurs de l'acide abscissique et des strigolactones. Jusqu'à présent, plusieurs études ont montré que des stress abiotiques affectaient les teneurs en caroténoïdes mais aucune n'a montré l'impact de stress biotiques sur leur accumulation. Chez la carotte, le champignon nécrotrophe *Alternaria dauci*, responsable de la brûlure foliaire, représente une menace économique importante (impossibilité de préhension des fanes lors de la récolte). Notre étude vise donc à 1) déterminer quel est l'impact d'une inoculation par *A. dauci* ainsi qu'en combinaison avec une restriction hydrique sur l'accumulation des caroténoïdes, 2) déterminer si la réponse dépend de l'organe et du génotype considéré, 3) mettre en évidence des niveaux de régulation impliqués dans l'accumulation des caroténoïdes. Pour cela six génotypes de carotte ont été choisis pour leur niveau de résistance contrasté à *A. dauci* ainsi que leur phénotype couleur. Ces génotypes ont été cultivés dans quatre conditions de culture : témoin, restriction hydrique, inoculation par *A. dauci* et la combinaison des deux stress. Dans un premier temps, le niveau de résistance a été déterminé par phénotypage sur feuille. Les teneurs en caroténoïdes, en sucres, en chlorophylles et en acide abscissique ont été déterminées par HPLC. Le niveau d'expression relative des gènes de la voie de biosynthèse et de signalisation des caroténoïdes est en cours d'étude. Les résultats montrent que les différents types de stress affectent les teneurs en caroténoïdes. Il semblerait également que pour le génotype le plus résistant à *A. dauci*, les teneurs en caroténoïdes soient moins affectées que pour le génotype le plus sensible. Dans les feuilles, les teneurs en chlorophylles sont affectées de façon similaire aux teneurs en caroténoïdes mais pas pour les sucres. Dans les racines, les teneurs en sucres sont affectées de façon similaire aux teneurs en caroténoïdes.

Functional variability of the detoxification system in wood-decaying fungi

T. Perrot^{1,2}, A. Deroy^{1,2}, F. Sayag², Z. Kebbi-Benkeder^{3,4,5}, N. Touahri^{3,4,5}, A. Hecker^{1,2}, M. Morel-Rouhier^{1,2}, R. Sormany^{1,2}, F. Colin^{4,5}, S. Dumarcay³, P. Gérardin³, E. Gelhaye^{1,2}

¹Université de Lorraine, IAM, UMR 1136, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy, France

²INRA, IAM, UMR 1136, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy, France

³Laboratoire d'Études et de Recherche sur le Matériau Bois, EA4370 Université de Lorraine USC INRA, Faculté des Sciences et Technologies, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy, France

⁴AgroParisTech, UMR 1092 LERFOB, 54000 Nancy, France

⁵INRA, UMR 1092 LERFOB, 54280 Champenoux, France

Fungi play a key role in the organic matter recycling and some of them, especially basidiomycetes, are the most efficient microorganisms to degrade lignocellulosic materials. To perform such degradation, these organisms have developed different strategies based on oxidative processes either using specific degradation enzymes or producing hydroxyl radicals by non-enzymatic Fenton reactions. Wood decaying fungi are thus in contact with many compounds resulting from wood decay and also compounds already present in wood. Among these latter, wood extractives (flavonoids, terpenoids, stilbenes...) are potentially toxic. To cope with this potential toxic environment, fungi have developed detoxification system involving multigenic families such as cytochrome P450 monooxygenases (involved in the first oxidation step of detoxication) and glutathione transferases (acting in the second conjugation step). It has been showed that different isoforms of fungal glutathione transferases are able to interact differently with extracts of various wood species. However, their roles in the fungal endogenous metabolism remain mysterious. We have particularly worked on glutathione transferases from the white-rot *Trametes versicolor* focusing on isoforms belonging to the omega class (GSTO). Among the 16 TvGSTOs identified in this fungus, we report here the biochemical characterization of nine isoforms.

Dynamique membranaire associée au transport de sucres dans les interactions plantes microorganismes

C. Pfister, N. Leborgne-Castel, D. Wipf

UMR Agroécologie/INRA 1347/Agrosup/Université de Bourgogne, Pôle Interactions Plantes Microorganismes
ERL 6300 CNRS - 17 Rue Sully, BP 86510 - 21065 Dijon Cedex, France

Par le biais de l'exsudation de sucres issus de la photosynthèse, la plante contrôle la population de microorganismes bénéfiques et pathogènes présents dans la rhizosphère. Au-delà du rôle de source de carbone, les sucres peuvent également agir en tant que molécules de signalisation essentielles à la physiologie et au développement de la plante, mais aussi dans les réponses aux stress biotiques et abiotiques. Le type d'interaction entre les plantes et les microorganismes (IPM) est en lien direct avec les échanges trophiques existant entre les deux partenaires. Lors de la symbiose mutualiste mycorhizienne, la plante bénéficie d'un apport de nutriments (phosphate, azote...) par le partenaire fongique, qui en échange reçoit des sucres. Dans une relation plante/pathogène, le microorganisme va, au contraire, détourner les sucres apportés par la plante sans contrepartie. Malgré l'identification des protéines responsables du transport de sucres aux interfaces biotrophes, les mécanismes moléculaires et cellulaires par lesquels les micro-organismes (mutualistes et pathogènes) exploitent la distribution des sucres produits par la plante sont encore mal connus à ce jour. Pour cela, nous souhaitons caractériser la dynamique membranaire végétale en lien avec le transport de sucres au cours des IPM (pathogènes ou mutualistes), chez *Nicotiana tabacum*. Le projet est d'abord mené sur des suspensions cellulaires de tabac, afin d'analyser les flux de sucres (saccharose, glucose et fructose) au travers de la membrane plasmique végétale des cellules soumises à diverses molécules microbiennes (éliciteurs, facteurs stimulant la mycorhization). En parallèle, nous identifions par criblage des bases de données de gènes et de protéines, les transporteurs de sucres putatifs du tabac. Cette étape sera suivie par l'analyse de l'expression par RT-qPCR des principaux candidats exprimés dans nos cellules. Enfin, nous analyserons la localisation intracellulaire de transporteurs sélectionnés afin d'observer leurs régulations par dynamique membranaire, en réponse à des microorganismes ou des molécules microbiennes. Dans une seconde étape, le projet sera développé et les résultats seront validés sur plante entière, où les racines seront en interaction avec des molécules microbiennes ou des champignons mycorhiziens et pathogènes.

Rôle de deux effecteurs de *Phytophthora parasitica* dans l'induction et la répression de la mort cellulaire

S. Testi¹, M.L. Kuhn¹, E. Catala¹, P. Auroy², F. Kong¹, N. Zuccini-Pascal³, H. Keller¹, F. Panabières¹

¹INRA, Université Nice Sophia Antipolis, CNRS, UMR 1355-7254 Institut Sophia Agrobiotech, 06900 Sophia Antipolis, France

²Institut de Biologie Environnementale et Biotechnologie, UMR 7265 CEA - CNRS - Aix Marseille Université, CEA Cadarache, 13108 Saint-Paul-lez-Durance, France

³INRA, Laboratoire de Toxicologie Cellulaire, Moléculaire et Génomique des Pesticides, UMR 1331 Toxalim, 06903 Sophia-Antipolis Cedex, France

Les oomycètes du genre *Phytophthora* produisent un arsenal d'effecteurs afin de promouvoir l'infection de leurs plantes hôtes. Parmi ces effecteurs, certains fonctionnent directement en tant que toxines en induisant la mort de cellules végétales, tandis que d'autres ont pour objectif de supprimer ou contourner les réactions de défense des plantes. *Phytophthora parasitica* est un agent pathogène racinaire possédant un cycle de vie hémibiotrophe. Cela signifie que l'oomycète établit un contact intime avec les cellules vivantes de l'hôte pendant les étapes initiales de l'infection (biotrophie), avant d'induire la mort des cellules végétales pour permettre son développement dans les tissus morts (nécrotrophie). Nous avons identifié deux effecteurs de *P. parasitica* dont l'expression est induite à différents stades de l'infection de la plante hôte, la tomate. L'un (Avh153) s'exprime au cours de la croissance nécrotrophe. Son expression hétérologue transitoire chez le tabac déclenche la mort cellulaire végétale. Le deuxième effecteur (Avh195), en revanche, s'exprime durant les premiers stades de l'infection. L'expression transitoire de cet effecteur chez le tabac montre qu'il atténue le potentiel inducteur de la mort cellulaire d'Avh153. Nous émettons donc l'hypothèse que Avh195 contribue à la mise en place de la phase biotrophe précoce, en bloquant la mort cellulaire. Nous analysons actuellement l'antagonisme des deux effecteurs dans les mécanismes qui conduisent à l'induction et la répression de la mort cellulaire. Chez les plantes, la mort cellulaire programmée (programmed cell death, PCD) peut être classifiée en trois catégories morphologiques principales, l'apoptose, l'autophagie, et la PCD non-lysosomale. Ces catégories de PCD sont communes à toutes les cellules d'eucaryotes. Aussi, nous avons initié une analyse trans-phylum de l'effet des deux effecteurs de *P. parasitica* sur l'induction ou la répression de la mort cellulaire sur des cellules végétales (tabac et *A. thaliana*), animales (HeLa), et des microalgues vertes (*Chlamydomonas reinhardtii*). Les résultats préliminaires de ces analyses seront présentés.

Facilitation et importance des microorganismes telluriques associés dans la production végétale (quantitative et qualitative)

J. Zerbib¹, D. Wipf¹, P.E. Courty²

¹UMR Agroécologie/INRA 1347/Agrosup/Université de Bourgogne, Pôle Interactions Plantes Microorganismes ERL 6300 CNRS - 17 Rue Sully, BP 86510 - 21065 Dijon Cedex, France

²Université de Fribourg Département de Biologie, Avenue de l'Europe, 1700, Fribourg, FR, Suisse

Dans le sol, les racines des plantes sont en interaction avec de nombreux microorganismes bénéfiques. Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA), colonisant plus de 80 % des plantes terrestres, peuvent fournir jusqu'à 90% de l'azote et du phosphore nécessaires à leur développement. Par ailleurs, des bactéries bénéfiques (*Pseudomonas fluorescens*) contribuent à un meilleur accès de la plante à certaines ressources du sol telles que le fer. Ces bactéries interagissent également avec les CMA. Ces deux symbioses mutualistes sont donc des déterminants importants pour la nutrition des plantes et pour la productivité des écosystèmes ; on peut les qualifier d'engrais biologiques. La raréfaction de certains éléments nutritifs du sol augmente l'importance de ces microorganismes bénéfiques à leur assimilation, en respectant l'environnement et en économisant les ressources. Dans ce contexte, l'objectif de notre travail de thèse est de travailler avec des plantes d'intérêt agronomique en co-culture, des bactéries bénéfiques et des CMA, afin d'exploiter le phénomène biologique de « facilitation ». En effet, certaines plantes ("nurse plants") facilitent la croissance et le développement d'autres espèces de plantes ("target plants") en leur offrant des conditions plus favorables à leur développement. Les premiers exemples de "nurse plants" ont été décrits dans des environnements extrêmes tels que les déserts. En milieu aride, les "nurse plants" sont capables d'aller puiser de l'eau en profondeur pendant la journée et de la redistribuer aux plantes en surface. Ce mécanisme de redistribution d'eau mais aussi des minéraux, se fait par l'intermédiaire des CMA. L'intérêt est de définir de nouveaux itinéraires de culture visant à favoriser les interactions bénéfiques entre plantes et microorganismes telluriques tout en réduisant les intrants chimiques de synthèse, et en allant vers une production végétale maintenue en termes de quantité et avec un impact sur la qualité des produits finaux.

Posters

Session 5



Functional characterization of the multicopper oxidase gene family, in the coprophilous fungus *Podospora anserina*: towards a better understanding of lignocellulose degradation by fungi

N. Xie^{1,2}, G. Ruprich-Robert^{2,3}, P. Silar^{1,2}, R. Ferrari¹, F. Chapeland-Leclerc^{2,3}

¹Sorbonne Paris Cité, Institut des Énergies de Demain (IED), Université Paris Diderot, UMR 8236, 75205 Paris, France

²Institut de Génétique et Microbiologie, Université Paris-Sud, UMR 8621, 91405 Orsay, France

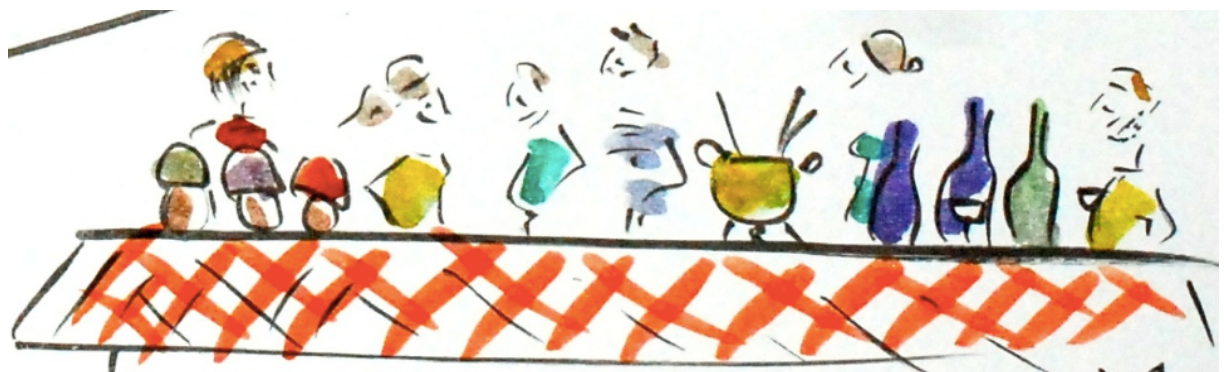
³Sorbonne Paris Cité, Institut des Énergies de Demain (IED), Université Paris Descartes, UMR 8236, 75205 Paris, France

Transformation of plant biomass into biofuels may supply environmentally friendly alternative biological sources of energy. Multicopper oxidases (MCOs), especially laccases, are supposed to be involved in the lysis of lignin, a prerequisite step for efficient breakdown of cellulose into fermentable sugars. Fungal laccases are used in many biotechnological applications such as in textile industries, bioremediation and as biosensors. More recently, other MCOs, the Billirubin Oxidases-like (BODs), were found to have laccase activity. The functions of MCOs, especially their roles during lignocellulose degradation, have not yet been fully investigated. Research on MCOs genes in *Podospora anserina* may contribute in the deciphering of the mechanisms of laccase roles in filamentous fungi. The roles of nine canonical laccases, one related MCO, two BODs, two ferroxidases (Fet-3 like) and one ascorbate oxidase (AO) of the ascomycete fungus *P. anserina* were investigated by targeted gene deletion. Our data show that the nine laccase mutants, as well as the MCO and the two BOD mutants were significantly reduced in their ability to use wood as food source. MCOs appear to be involved at several stages of lignocellulose breakdown, including growth in the presence of lignin, degradation of cellulose, resistance to phenolics and peroxide. Double mutant analysis evidenced functional redundancy among MCOs. Finally, we confirm that the BODs of *P. anserina* have laccase activity. Interestingly of applications in biotechnology, this activity is thermoresistant. The two Fet-3 like and the AO seem not involved in the lignocellulose degradation. However the mutant ascospores present pigmentation defects.

Journées Jean Chevaugeon 2016



LISTE DES PARTICIPANTS



PARTICIPANTS JJC 2016

NOM	PRENOM	ADRESSE	COURRIEL
Adreit	Henri	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TAA-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	henri.adreit@cirad.fr
Allasia	Valérie	INRA, UMR 1355-7254 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 Route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	valerie.allasia@sophia.inra.fr
Atuahiva	Timeri	Établissement Vanille de Tahiti, Raiatea 98735 Uturoa-Raiatea, Polynésie Française	tim_atuahiva@yahoo.fr
Ben Salah	Imane	Laboratoire de Biotechnologie, Valorisation et Protection des Agro-Ressources, Faculté des Sciences et Techniques, Guéliz, Université, Cadi Ayad, Guéliz, Maroc	bensalah.imane7@gmail.com
Blondin	Laurence	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TAA-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	laurence.blondin@cirad.fr
Bonfante	Paola	Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università degli Studi di Torino, Viale Mattioli 25, 10125 Torino, Italie	paola.bonfante@unito.it
Bonnot	François	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TAA-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	francois.bonnot@cirad.fr
Bourgeay	Jean-François	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	jean-francois.bourgeay@avignon.inra.fr
Calonnec	Agnès	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	calonnec@bordeaux.inra.fr
Changenet	Valentin	Institute of Plant Sciences Paris-Saclay IPS2, CNRS, INRA, Universités Paris Sud, Evry, Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, et Paris-Saclay, Rue de Noetzlin, 91405 Orsay, France	valentin.changenet@u-psud.fr
Chapeland-Leclerc	Florence	Sorbonne Paris Cité, Institut des Énergies de Demain (IED), Université Paris Diderot, UMR 8236, 75205 Paris, France	florence.leclerc@parisdescartes.fr
Cilas	Christian	CIRAD, UR 106 Bioagresseurs, TAA-106 / D - Campus international de Baillarguet, F-34398 Montpellier, France	christian.cilas@cirad.fr
Confais	Johann	INRA, UMR 1290 BIOGER, INRA-AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	johann.confais@versailles.inra.fr
Corbière	Roselyne	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA-Agrocampus Ouest-Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	roselyne.corbiere@rennes.inra.fr
Costet	Laurent	CIRAD, UMR PVBMT, F-97410 Saint-Pierre, La Réunion, France	laurent.costet@cirad.fr
Courtial	Julia	Université d'Angers, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé Cedex, France	julia.courtial@etud.univ-angers.fr
Croll	Daniel	Department of Environmental Systems Science, Universitätstrasse 2, 8092 Zürich, Suisse	daniel.croll@usys.ethz.ch

PARTICIPANTS JJC 2016

NOM	PRENOM	ADRESSE	COURRIEL
De Mita	Stéphane	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	demita@gmail.com
Drain	Alice	INRA, UMR 1347 Agroécologie, INRA-Université de Bourgogne-CNRS, BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon, France	alice.drain@dijon.inra.fr
Dron	Michel	Institute of Plant Sciences Paris-Saclay IPS2, CNRS, INRA, Universités Paris Sud, Evry, Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, et Paris-Saclay, Rue de Noetzlin, 91405 Orsay, France	michel.dron@u-psud.fr
Duffaud	Magali	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	magali.duffaud@avignon.inra.fr
Dufour	Marie-Cécile	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	dufour@bordeaux.inra.fr
Dumas	Bernard	CNRS, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP 42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	dumas@lrsv.ups-tlse.fr
Duplessis	Sébastien	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	duplessi@nancy.inra.fr
Fournier	Élisabeth	INRA, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	elisabeth.fournier@supagro.inra.fr
Frey	Pascal	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	pascal.frey@nancy.inra.fr
Gatti	Miriam	Institute of Plant Sciences Paris-Saclay IPS2, CNRS, INRA, Universités Paris Sud, Evry, Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, et Paris-Saclay, Rue de Noetzlin, 91405 Orsay, France	miriam.gatti@u-psud.fr
Gaulin	Élodie	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP 42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	gaulin@lrsv.ups-tlse.fr
Gelhaye	Éric	Université de Lorraine, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy, France	eric.gelhaye@univ-lorraine.fr
Gitton	Vincent	INRA, UMR 1290 BIOGER, INRA-AgroParisTech, Avenue Lucien Brétiégnières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	vincent.gitton@versailles.inra.fr
Godiard	Laurence	INRA, UMR 441 LIPM, INRA-CNRS, BP 525627, 31326 Castanet Tolosan Cedex, France	laurence.godiard@toulouse.inra.fr
Grosdidier	Marie	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	mgrosdidier@nancy.inra.fr
Habas	Rémy	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	remy.habas@cirad.fr
Hamelin	Frédéric	Agrocampus Ouest, UMR 1349 IGEPP, INRA-Agrocampus Ouest-Université Rennes 1, 65 rue de Saint Briec, 35042 Rennes Cedex, France	fhamelin@agrocampus-ouest.fr

PARTICIPANTS JJC 2016

NOM	PRENOM	ADRESSE	COURRIEL
Hérail	Claude	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	claud.heraill@cirad.fr
Husson	Claude	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	claud.husson@nancy.inra.fr
Ioos	Renaud	ANSES, Domaine de Pixérécourt, Bât. E, 54220 Malzéville, France	renaud.ioos@anses.fr
Jacquot	Jean-Pierre	Université de Lorraine, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy, France	j2p@univ-lorraine.fr
Kamel	Laurent	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP 42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	laurent.kamel@lrsv.ups-tlse.fr
Keller	Harald	INRA, UMR 1355-7254 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 Route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	harald.keller@sophia.inra.fr
Kilani	Jaafar	INRA, UMR 1290 BIOGER, INRA-AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	jaafar.kilani@versailles.inra.fr
Kröner	Alexander	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA-Agrocampus Ouest-Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	alexander.kroener@gmail.com
Kuhn	Marie-Line	INRA, UMR 1355-7254 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 Route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	marie-line.kuhn@sophia.inra.fr
Laloi	Gaëlle	INRA, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé Cedex, France	gaelle.laloi@angers.inra.fr
Lannou	Christian	INRA, Département SPE, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	christian.lannou@versailles.inra.fr
Lecomte	Sylvain	Laboratoire Biologie des Plantes et Innovation (BIOPI) EA3900, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	slecomte@linea-semences.com
Legeay	Jean	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	jean.legeay.chiron@gmail.com
Leyronas	Christel	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	christel.leyronas@avignon.inra.fr
Lorrain	Cécile	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	cecile.lorrain@nancy.inra.fr
Lounès-Hadj Sahraoui	Anissa	Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV), Université du Littoral Côte d'Opale, 50 rue Ferdinand Buisson, 62228 Calais Cedex, France	lounes@univ-littoral.fr
Mabon	Romain	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA-Agrocampus Ouest-Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	romain.mabon@rennes.inra.fr

PARTICIPANTS JJC 2016

NOM	PRENOM	ADRESSE	COURRIEL
Maghnia	Fatima	CIRAD UMR LSTM, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier, France	andalous_fz@hotmail.com
Makowski	David	INRA, UMR 211 Agronomie INRA-AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	davkd.makowski@grignon.inra.fr
Malagnac	Fabienne	Université Paris-Sud, UMR 9198 Institute of Integrative Biology of the Cell, Idex Paris-Saclay (CEA, CNRS, Université Paris-Sud)	fabienne.malagnac@u-psud.fr
Marçais	Benoit	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	benoit.marçais@nancy.inra.fr
Marquer	Bruno	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA-Agrocampus Ouest-Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	bruno.marquer@rennes.inra.fr
Maupetit	Agathe	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	agathe.maupetit@yahoo.com
Mboup	Mamadou Kane	DuPont De Nemours - Protection des cultures, 24 rue du Moulin, 68740 Namsheim, France	mamadou-kane.mboup@dupont.com
Meyer	Michel	INRA, UMR 1290 BIOGER, INRA-AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	mmeyeri@versailles.inra.fr
Morel-Rouhier	Mélanie	Université de Lorraine, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy, France	melanie.morel@univ-lorraine.fr
Nagati	Mélessande	Université Paul Sabatier, UMR5174 UPS-CNRS, Laboratoire Évolution et Diversité Biologique, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex, France	melissande.nagati@uqat.ca
Ndongué Djeumekop	Mireliie Minette	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	mireillendoung2015@yahoo.fr
Neema	Claire	Montpellier SupAgro, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	neema@supagro.inra.fr
Nigg	Martha	Centre d'Étude de la Forêt (CEF), Université Laval, Québec, G1V 0A6, Canada	martha.nigg.1@ulaval.ca
Panabières	Franck	INRA, UMR 1355-7254 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 Route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	franck.panabieres@sophia.inra.fr
Pasco	Claudine	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA-Agrocampus Ouest-Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	claudine.pasco@rennes.inra.fr
Perrin	Florent	Université d'Angers, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé Cedex, France	florent.perrin@univ-angers.fr
Perrot	Thomas	Université de Lorraine, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy, France	thomas.perrot8@etu.univ-lorraine.fr

PARTICIPANTS JJC 2016

NOM	PRENOM	ADRESSE	COURRIEL
Petit	Yohann	INRA, UMR 1290 BIOGER, INRA-AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	yohann.petit@versailles.inra.fr
Pfister	Carole	Université de Bourgogne, UMR 1347 Agroécologie, INRA-Université de Bourgogne-CNRS, BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon, France	carole.pfister@dijon.inra.fr
Porquier	Antoine	INRA, UMR 1290 BIOGER, INRA-AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	antoine.porquier@versailles.inra.fr
Pujade-Renaud	Valérie	CIRAD, UMR AGAP, Université Blaise Pascal, laboratoire PIAF, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand Cedex, France	valerie.pujade-renaud@cirad.fr
Redecker	Dirk	Université de Bourgogne, INRA-Université de Bourgogne-CNRS, BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon, France	dirk.redecker@dijon.inra.fr
Ribeiro	Sébastien	Université Blaise Pascal, UMR AGAP, UBP laboratoire PIAF, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand Cedex, France	sebastien_ribeiro@bbox.fr
Rohrlich	Clara	CIRAD, UMR PVBMT, F-97410 Saint-Pierre, La Réunion, France	
Roux	Christophe	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	roux@lrsv.ups-tlse.fr
Roy	Mélanie	Université Paul Sabatier, UMR5174 UPS-CNRS, Laboratoire Évolution et Diversité Biologique, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex, France	melanie.roy@univ-tlse3.fr
Ruprich-Robert	Gwenaël	Sorbonne Paris Cité, Institut des Énergies de Demain (IED), Université Paris Diderot, UMR 8236, 75205 Paris, France	florence.leclerc@parisdescartes.fr
Sache	Ivan	AgroParisTech, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris Cedex 05, France	ivan.sache@versailles.inra.fr
Savoie	Jean-Michel	INRA, UR1264 MycSA, CS20032, 33882 Villenave d'Ornon Cedex, France	savoie@bordeaux.inra.fr
Schneider-Mauoury	Laure	Museum National d'Histoire Naturelle, 45 rue d'Ulm, 75005 Paris	gwenael.ruprich-robert@parisdescartes.fr
Selosse	Marc-André	Museum National d'Histoire Naturelle, UMR 7205 Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité, 57 rue Cuvier, 75231 Paris, France	ma.selosse@wanadoo.fr
Séne	Seynabou	IRD/ISRA/UCAD, Laboratoire Commun de Microbiologie (LCM), Ouest Foire Cité Air France, Centre de Recherche Bel-Air, Dakar, Sénégal	senseynabou@gmail.com
Spanu	Pietro	Imperial College London, South Kensington Campus, London SW7 2AZ, Royaume-Uni	p.spanu@imperial.ac.uk
Spatafora	Joseph W.	Department of Botany and Plant Pathology, Oregon State University, 2082 Cordley Hall, Corvallis, OR 97331-2902	spatafoj@bcc.orst.edu

PARTICIPANTS JJC 2016

NOM	PRENOM	ADRESSE	COURRIEL
Taschen	Elisa	CNRS, CEFE, Campus du CNRS, 1919 Route de Mende 34293 Montpellier Cedex 5	elisa.taschen@cefe.cnrs.fr
Testi	Serena	INRA, UMR 1355-7254 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 Route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	serena.testi@sophia.inra.fr
Tharreau	Didier	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TAA-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	tharreau@cirad.fr
Thermoz	Jean-Pierre	INRA, UMR AGAP, Route de l'Inra, 20230 San Giulano	thermoz@corse.inra.fr
Thioye	Babacar	IRD/ISRA/UCAD, Laboratoire Commun de Microbiologie (LCM), Ouest Foire Cité Air France, Centre de Recherche Bel-Air, Dakar, Sénégal	babacarthioye@yahoo.fr
Troulet	Claire	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	claire.troulet@avignon.inra.fr
Valette	Nicolas	Université de Lorraine, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy, France	nicolas.valette@univ-lorraine.fr
Vidal	Tiphaine	INRA, UMR 1091 EGC INRA-AgroParisTech, Route de la Ferme, 78850 Thiverval-Grignon, France	tvidal@grignon.inra.fr
Zerbib	Jérémie	Université de Bourgogne, UMR 1347 Agroécologie, INRA-Université de Bourgogne-CNRS, BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon, France	jz@oriskany.eu