



**HAL**  
open science

# Evolution expérimentale et génétique des populations au service de la gestion durable des résistances des plantes

Josselin Montarry

► **To cite this version:**

Josselin Montarry. Evolution expérimentale et génétique des populations au service de la gestion durable des résistances des plantes. Sciences du Vivant [q-bio]. Ecole doctorale EGAAL, 2019. tel-03245231

**HAL Id: tel-03245231**

**<https://hal.inrae.fr/tel-03245231>**

Submitted on 1 Jun 2021

**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.

# **HABILITATION à DIRIGER les RECHERCHES**

**Ecole doctorale EGAAL**

## **Evolution expérimentale et génétique des populations au service de la gestion durable des résistances des plantes**

Soutenance publique le 21 novembre 2019 devant le jury composé de :

Jacqui SHYKOFF, Directrice de Recherche, CNRS, rapporteur

Véronique LEFEBVRE, Directrice de Recherche, INRA, rapporteur

Aurélien TELLIER, Professeur, Université de Munich, rapporteur

Philippe CASTAGNONE-SERENO, Directeur de Recherche, INRA, examinateur

Olivier PLANTARD, Directeur de Recherche, INRA, examinateur

Philippe VANDENKOORNHUYSE, Professeur, Université de Rennes 1, examinateur

Présentée par :

Josselin MONTARRY, Chargé de Recherche, INRA

# Sommaire

<b>Remerciements.....</b>	<b>2</b>
<b>Présentation du candidat.....</b>	<b>3</b>
<b>Situation administrative.....</b>	<b>3</b>
<b>Cursus.....</b>	<b>3</b>
<b>Activité d’animation, d’expertise et d’enseignement.....</b>	<b>4</b>
<b>Activité d’encadrement.....</b>	<b>5</b>
<b>Liste de publications.....</b>	<b>6</b>
<b>Publications marquantes.....</b>	<b>10</b>
<b>Introduction.....</b>	<b>13</b>
<b>Recherche doctorale et post-doctorale - Différents pathosystèmes étudiés.....</b>	<b>17</b>
<i>Phytophthora infestans</i> , l’oomycète responsable du mildiou de la pomme de terre.....	17
<i>Erysiphe necator</i> , l’ascomycète responsable de l’oïdium de la vigne.....	25
PVY, le virus Y de la pomme de terre.....	29
<b>Projet scientifique actuel sur les nématodes à kyste.....</b>	<b>36</b>
<b>Sélection : modifications phénotypiques et génomiques associées à l’adaptation de <i>Globodera pallida</i> à la résistance de la pomme de terre.....</b>	<b>39</b>
<b>Dérive génétique : l’importance de la taille efficace chez les nématodes à kyste.</b>	<b>45</b>
<b>Migration : la dispersion active des larves et passive des kystes.....</b>	<b>49</b>
<b>Biocontrôle : le concept d’éclosion suicide.....</b>	<b>54</b>
<b>Perspectives.....</b>	<b>63</b>
<b>Motivations à obtenir l’HDR.....</b>	<b>72</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>73</b>
<b>Annexe : Liste des autres types de valorisation.....</b>	<b>84</b>

## Remerciements

Je voudrai tout d'abord remercier les membres de mon jury, qui ont accepté de rapporter ou d'examiner ce document et d'être présents à la soutenance.

Je remercie le département SPE, le métaprogramme SMaCH, le CASDAR, l'EFSA et l'ADEME de m'avoir soutenu via le financement de projets de recherche. Je remercie aussi l'ACVNPT et l'ANRT pour le financement de la bourse de thèse CIFRE de Nicolas Mariette, le département SPE et la région Bretagne pour le financement de la bourse de thèse de Delphine Eoche-Bosy et le CMI Roullier et l'ANRT pour le financement de la bourse de thèse CIFRE de Camille Gautier.

Un grand merci à toutes les personnes avec lesquelles j'ai travaillé lors de ma thèse et mes post-doctorats, et en particulier à Didier Andrivon, qui a été mon directeur de thèse, François Delmotte et Laëtitia Villoquet, avec qui j'ai travaillé à l'INRA de Bordeaux, Benoit Moury et Frédéric Fabre, avec qui j'ai travaillé à l'INRA d'Avignon. J'ai également une pensée émue pour Mireille Jacquemond et Alain Palloix. Toutes ces personnes m'ont énormément apporté scientifiquement. Merci aussi à Karima Bouchek qui a été mon encadrante de stage de Maîtrise et qui a donc été la première personne à me faire confiance en me proposant un sujet de stage.

La recherche n'est pas un sport individuel, mais bien un sport collectif, et l'ensemble des résultats de recherche présentés dans ce rapport ont été obtenus grâce à toutes les personnes avec lesquelles j'ai travaillé et avec lesquelles je travaille au quotidien. Merci à Eric Grenier et Sylvain Fournet avec qui nous formons un trio de scientifiques très complémentaires, et merci aux techniciens de l'équipe : Magali Esquibet, Catherine Porte, Sylvie Bardou-Valette (qui a depuis rejoint une autre unité INRA), Didier Fouville, Lionel Renault et Christophe Piriou. Je remercie aussi l'ensemble de mes collaborateurs français et étrangers, et en particulier Eric Petit (UMR INRA ESE) qui a toujours une nouvelle simulation à proposer.

Je remercie aussi chaleureusement les étudiants et doctorants que j'ai encadrés. Nicolas, j'espère que ton investissement sur le projet BIODERA te permettra de trouver un poste de permanent rapidement. Delphine, bravo pour tes travaux de thèse en génomique des populations, nous continuerons ce que tu as initié et je te souhaite plein de bonnes choses pour la suite. Camille, garde le cap pour cette dernière année de thèse.

Et enfin je remercie ma famille qui vient de s'agrandir. Merci ma loute pour ton soutien permanent et merci à mes deux garçons, Marceau, qui fait mon bonheur depuis 6 ans ½, et Aurel qui est né le 11 juin 2019.

## Présentation du candidat

### Situation administrative

MONTARRY Josselin, Yann, Frédéric  
Né le 28/05/1980 à Lisieux (14), 39 ans  
Pacsé, 2 enfants  
INRA, UMR1349 IGEPP, équipe Résistance et Adaptation

### Cursus

1998	Baccalauréat Scientifique, spécialité mathématiques - Lycée Ch. Fr. LEBRUN de Coutances.
2000	DEUG de biologie, spécialité sciences de la vie - Université de Caen.
2001	Licence de biologie cellulaire et physiologie - Université de Rennes 1.
2002	Maîtrise de biologie cellulaire et physiologie, mention physiologie végétale - Université de Rennes 1, mention assez bien.
2003	DEA Génétique, Adaptations et Productions Végétales, option Relations plantes/bioagresseurs et auxiliaires, co-habilité par l'Université de Rennes 1 et le Pôle agronomique de Rennes, mention bien.
2007	Doctorat de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, spécialité Biologie et Agronomie, mention très honorable.
2007-2008	Post-doc 1 - UMR Santé Végétale – INRA Bordeaux.
2008-2010	Post-doc 2 - UR Pathologie Végétale – INRA Avignon.
2010	Recrutement en tant que CR à l'INRA de Rennes.

Suite à une formation universitaire en biologie cellulaire et physiologie végétale, le choix d'un stage de maîtrise en phytopathologie m'a permis de découvrir l'INRA. Ce stage m'a sensibilisé au problème de la protection des cultures et aux différentes thématiques de recherche qui lui sont associées. J'ai alors décidé de me consacrer à la recherche agronomique, ce qui m'a amené à choisir un DEA puis une thèse dans le domaine de la pathologie végétale.

Mes travaux de thèse puis de post-doctorats, réalisés à l'UMR BiO3P de l'INRA de Rennes, à l'UMR Santé Végétale de l'INRA de Bordeaux et à l'UR Pathologie Végétale de l'INRA d'Avignon, m'ont convaincu de l'intérêt d'insuffler des concepts de **biologie évolutive**, d'**écologie** et de **génétique des populations** dans les études de phytopathologie traditionnelles. Effectivement, la durabilité des systèmes agricoles en général, et des méthodes de lutte contre les bioagresseurs en particulier, sont des enjeux majeurs de la recherche agronomique internationale qui nécessitent l'intégration de certains de ces concepts.

### **Activité d'animation, d'expertise et d'enseignement**

J'ai été impliqué dans plusieurs projets de recherche, en tant que participant, responsable de workpackage (WP) ou coordinateur. Mes travaux de recherche doctorale et post-doctorale se sont inscrits dans deux projets européens (Blight-Mop et Eucablight) et dans un projet BioRessource. Et depuis mon recrutement, j'ai été :

- i) **coordinateur** d'un projet SPE (2012-2013) intitulé '*Les faibles capacités actives de dispersion des nématodes entraînent-elles une sous-structuration des populations ?*',
- ii) **co-responsable pour l'INRA et responsable d'un WP** du PIA-ADEME BIODERA (2017-2020) qui implique également le CMI Roullier, la FN3PT et l'Université de Rouen et qui vise à développer de nouvelles solutions de biocontrôle face aux nématodes phytoparasites,
- iii) **co-responsable d'un WP** intitulé '*Etude de la diversité génétique de Meloidogyne chitwoodi et M. falax*' dans le projet CASDAR NemaTools (2015-2018) qui impliquait également la FN3PT et l'ANSES,
- iv) **participant** dans le projet EFSA PALADAPT (2018-2019) qui implique également des chercheurs de l'université de Wageningen (Pays-Bas) et du JKI (Allemagne), et qui vise à développer de nouveaux outils plus performants pour suivre et faire face à l'apparition de populations virulentes du nématode à kyste de la pomme de terre *Globodera pallida*,
- v) **participant** dans le projet CASDAR GECONEM (2019-2022) intitulé '*Comment gérer collectivement la résistance variétale face aux populations de nématodes à kyste de la pomme de terre ?*', et qui implique également l'UMR INRA SAD-APT, l'ANSES, la DGAL, la FN3PT, Arvalis, l'ACVNPT et la Coopérative de Noirmoutier.

En termes de contribution au fonctionnement de mon unité, je suis **membre élu au conseil scientifique** de l'unité et je suis **responsable du groupe en charge de l'animation scientifique et technique** de l'IGEPP. Ce groupe organise un séminaire par semaine (les jeudis de l'IGEPP), une journée des doctorants, une journée des stagiaires de M2 et une journée thématique par an.

Je suis actuellement le **responsable direct de deux personnes** : Magali Esquibet (Assistante Ingénieure) et Catherine Porte (Technicienne). Afin de remplacer un collègue séjournant en mission longue durée au Canada, j'ai été lors de l'année scolaire 2015-2016 **responsable d'une équipe de 35 personnes** (Budget, RH, Entretiens individuels, Réunions d'équipe ...).

Je suis également membre de deux sociétés savantes, l'ESN (**European Society of Nematologists**) et la SFP (**Société Française de Phytopathologie**).

En terme d'appui à la décision publique, j'ai participé en tant que rapporteur à une **expertise collective ANSES** (CES Risques biologiques pour la santé des végétaux) relative à l'utilisation de variétés résistantes de pomme de terre dans des champs contaminés par des nématodes à kyste (*Globodera* spp.). Cette expertise a permis de préciser le niveau de résistance des variétés permettant d'assurer la non multiplication des populations de nématodes et d'évaluer différentes conditions d'utilisation des variétés résistantes. Le rapport est accessible depuis Mars 2016 sur le site de l'ANSES.

J'ai également participé en 2017 à l'**expertise collective INRA** 'Peut-on se passer du cuivre en protection des cultures biologiques?'. Cette EsCO a été demandée à l'INRA par l'ITAB et le Métaprogramme SMaCH. Elle a été coordonnée par Didier Andrivon et Isabelle Savini et a rassemblé un collectif d'experts (Andrivon D., Bardin M., Bertrand C., Brun L., Daire X., Decognet V., Fabre F., Gary C., Grenier A.S., Montarry J., Nicot P., Reignault P. Tamm L.). Ce travail d'analyse des acquis scientifiques, mais aussi des manques actuels dans certains domaines, permet de dégager plusieurs conclusions importantes dans une perspective de réduction ou d'abandon des usages phytosanitaires du cuivre. Différentes alternatives à l'emploi du cuivre ont ainsi été explorées, et j'avais en charge, avec Frédéric Fabre, le chapitre sur les résistances génétiques des plantes. La restitution de l'expertise a eu lieu en janvier 2018. Les différents documents (rapport, synthèse et résumé de l'expertise) sont accessibles sur le site de l'INRA et un ouvrage est paru en 2019 aux éditions Quae.

J'effectue le **reviewing de plusieurs papiers par an** pour différents journaux : *Molecular Biology and Evolution*, *Molecular Ecology*, *Plant Pathology*, *Phytopathology*, *Applied and Environmental Microbiology*, *FEMS Microbiology Ecology*, *PLoS ONE*, *Letters in Applied Microbiology*, *Environmental Microbiology*, *BMC Plant Biology*, *European Journal of Plant Pathology*, *Journal of Phytopathology*, *International Journal of Wine Research* et *Acta Oecologica*. Et je suis actuellement **éditeur associé** pour un topic de *Frontiers in Plant Science* et *Frontiers in Microbiology* intitulé 'Plant pathogen life-history traits and adaptation to environmental constraints'.

Je suis sollicité chaque année par les enseignants-chercheurs d'Agrocampus-Ouest, de l'Université de Rennes et/ou de l'Université d'Angers pour intervenir devant les étudiants de Master 2, Pro et Recherche. Ceci m'amène à dispenser **environ 3h de cours par an**. Ces cours s'intitulent généralement 'Evolution expérimentale et génétique/génomique des populations au service de la durabilité des résistances végétales' et j'utilise principalement des exemples sur les virus et les nématodes. Mes interventions permettent de sensibiliser les étudiants à la nématologie, discipline peu enseignée dans les formations universitaires.

J'ai coordonné ces trois dernières années un projet '**Classe en entreprise**' avec des classes de 3<sup>ème</sup>. L'idée du projet est de faire découvrir aux collégiens l'INRA, les différents métiers de la recherche et de faire du lien entre les cours et les activités professionnelles. Une classe d'une trentaine d'élèves vient passer deux jours dans l'unité et ils ont une présentation de l'INRA, de l'IGEPP et des différents métiers, des visites de serres et laboratoires, des TP (pêche de larves de nématodes et identification d'espèces de pucerons), des cours de SVT, Mathématiques et Anglais, et des entretiens en petits groupes avec des agents de l'unité exerçant différents métiers. Les données obtenues en TP sont exploitées dans les cours de SVT et Anglais pour la partie sur les nématodes et dans le cours de Mathématiques pour la partie sur les pucerons.

### **Activité d'encadrement**

En termes d'encadrement de stagiaires, j'ai eu **un stagiaire de M1**, Pierre-Loup Jan (2013) sur l'exploration du déficit en hétérozygotes chez les nématodes à kyste, et **six stagiaires de M2** :

Elodie Cartier (2010) sur l'adaptation du PVY à une résistance quantitative, Jérémy Gauthier (2012) et Amandine Juhel (2014) sur du genome scan chez *G. pallida*, Lucile Pellan (2016) sur l'adaptation à la température chez *H. schachtii* et Romain Darriaut (2018) et Lisa Martinez (2019) sur l'effet du microbiote sur les exsudats racinaires. A l'exception d'une étudiante, ils ont tous continué en thèse ou sont actuellement à la recherche d'un sujet de thèse. J'ai également participé en 2016 à un **jury de soutenance de M2** (EFCE, Rennes I) pour cinq étudiants.

En termes de co-encadrement de doctorants, j'ai co-encadré **trois doctorant(e)s** dont deux qui ont soutenu en 2015 (Nicolas Mariette) et 2016 (Delphine Eoche-Bosy) et une (Camille Gautier) que je co-encadre actuellement. N. Mariette a travaillé sur les traits d'histoire de vie, l'adaptation et le pouvoir invasif de lignées clonales de *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre (co-encadré par Didier Andrivon). Il est aujourd'hui ingénieur d'étude en CDD sur le projet BIODERA. D. Eoche-Bosy a travaillé sur les bases génétiques de l'adaptation du nématode à kyste de la pomme de terre (*Globodera pallida*) aux résistances issues de *Solanum vernei* (co-encadré par Eric Grenier). N'étant pas mobile géographiquement, elle n'a pas encore trouvé d'emploi dans la recherche. Et C. Gautier travaille sur les exsudats radiculaires de plantes comme nouveaux produits de biocontrôle contre les nématodes phytoparasites (co-encadré par Eric Grenier et Sylvain Fournet).

J'ai été, ou suis encore, **membre de six comité de thèse** : Julie Quenouille (INRA Avignon), Gaëlle Laloi (INRA Angers), Pierre-Loup Jan (INRA Rennes), Gaëtan Maillot (INRA Avignon), Agathe Maupetit (INRA Nancy) et Cécilia Fontyn (INRA Grignon) et j'ai participé en tant que **rapporteur** à la soutenance de thèse de Melanie Montes (intitulée 'Population Genetics of *Phytophthora infestans*'), qui a eu lieu le 24 novembre 2017 à l'université de Copenhague.

Toujours au sujet de l'encadrement, j'ai suivi deux jours de formation « Encadrement du projet doctoral » en 2014 et cinq jours de formation « Management des encadrants de proximité » en 2018.

### Liste de publications

Nombre de publications de rang A : **42**

Nombre de publications de rang A comme auteur principal : **21**

H-index (Web of Science) : **19**

Liste des publications de rang A (le nom des étudiants que j'ai encadrés est souligné) et IF :

- [P42] Gautier C., Esquibet M., Fournet S., Piriou C., Yvin J.C., Nguema-Ona E., Grenier E. and **Montarry J.** (2019) Microsatellite markers reveal two genetic groups in European populations of the carrot cyst nematode *Heterodera carotae*. *Infection, Genetics and Evolution* **73**: 81-92. (IF<sub>2017</sub> = 2.5).
- [P41] **Montarry J.**, Bardou-Valette S., Mabon R., Jan P.L., Fournet S., Grenier E. and Petit E.J. (2019) Exploring the causes of small effective population sizes in cyst nematodes using artificial *Globodera pallida* populations. *Proceedings of the Royal Society of London B – Biological Sciences* **286**: 20182359. (IF<sub>2017</sub> = 4.8).
- [P40] Mariette N., Kröner A., Mabon R., **Montarry J.**, Marquer B., Corbière R. and Andrivon D. (2018) A trade-off between sporangia size and number exists in the potato late blight

pathogen *Phytophthora infestans*, and is not altered by biotic and abiotic factors. *Frontiers in Plant Science* **9**: 1841. (IF<sub>2017</sub> = 3.7).

- [P39] Fournet S., Pellan L., Porte C., Piriou C., Grenier E. and **Montarry J.** (2018) Populations of the beet cyst nematode *Heterodera schachtii* exhibit strong differences in their life-history traits across changing thermal conditions. *Frontiers in Microbiology* **9**: 2801. (IF<sub>2017</sub> = 4.0).
- [P38] Fournet S., Eucho-Bosy D., Kerlan M.C., Grenier E. and **Montarry J.** (2018) Phenotypic and genomic modifications associated with *Globodera pallida* adaptation to potato resistances. *Potato Research* **61**: 65-71. (IF<sub>2017</sub> = 0.8)
- [P37] Pilet-Nayel M.L., Moury B., Caffier V., **Montarry J.**, Kerlan M.C., Fournet S., Durel C.E. and Delourme R. (2017) Quantitative resistance to plant pathogens in pyramiding strategies for durable crop protection. *Frontiers in Plant Science* **8**: 1838. (IF = 3.7)
- [P36] Eucho-Bosy D., Gautier M., Esquibet M., Legeai F., Bretaudeau A., Bouchez O., Fournet S., Grenier E. and **Montarry J.** (2017) Genome scans on experimentally evolved populations reveal candidate regions for adaptation to plant resistance in the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Molecular Ecology* **26**: 4700-4711. (IF = 6.1)
- [P35] Kröner A., Mabon R., Corbière R., **Montarry J.** and Andrivon D. (2017) The coexistence of generalist and specialist clonal lineages in natural populations of the Irish Famine pathogen *Phytophthora infestans* explains local adaptation to potato and tomato. *Molecular Ecology* **26**: 1891-1901. (IF = 6.1)
- [P34] Eucho-Bosy D., Gauthier J., Juhel A.S., Esquibet M., Fournet S., Grenier E. and **Montarry J.** (2017) Experimentally evolved populations of the potato cyst nematode *Globodera pallida* allow the targeting of genomic footprints of selection due to host adaptation. *Plant Pathology* **66**: 1022-1030. (IF = 2.3)
- [P33] Mariette N., Androdias A., Mabon R., Marquer B., Corbière R., **Montarry J.** and Andrivon D. (2016) Local adaptation to temperature within populations and clonal lineages of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*. *Ecology and Evolution* **6**: 6320-6331. (IF = 2.4)
- [P32] Laloi G., **Montarry J.**, Guibert M., Andrivon D., Michot D. and Le May C. (2016) Aggressiveness changes over time in populations of *Didymella pinodes* over winter and spring pea cropping seasons. *Applied and Environmental Microbiology* **82**: 4330-4339. (IF = 3.8)
- [P31] Eves-van den Akker S., Laetsch D.R., Thorpe P. Lilley C.J., Danchin E.G.J., Da Rocha M., Rancurel C., Holroyd N.E., Cotton J.A., Szitenberg A., Grenier E., **Montarry J.**, Mimee B., Duceppe M.O., Boyes I., Marvin J.M.C., Jones L.M., Yusup H.B., Lafond-Lapalme J., Esquibet M., Sabeh M., Rott M., Overmars H., Finkers-Tomczak A., Smant G., Koutsovoulos G., Blok V., Mantelin S., Cock P.J.A., Phillips W., Henrissat B., Urwin P.E., Blaxter M. and Jones J.T. (2016) The genome of the yellow potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, reveals insights into the basis of parasitism and virulence. *Genome Biology* **17**: 124. (IF = 11.9)
- [P30] Fournet S., Eucho-Bosy D., Renault L. Hamelin F.M. and **Montarry J.** (2016) Adaptation to resistant hosts increases fitness on susceptible hosts in the plant parasitic nematode *Globodera pallida*. *Ecology and Evolution* **6**: 2559-2568. (IF = 2.4)
- [P29] Mariette N., Mabon R., Corbière R., Boulard F., Glais I., Marquer B., Pasco C., **Montarry J.** and Andrivon D. (2016) Phenotypic and genotypic changes in French populations of *Phytophthora infestans*: are invasive clones the most aggressive? *Plant Pathology* **65**: 577-586. (IF<sub>2015</sub> = 2.4)

- [P28] Bardou-Valette S., Grenier E. and **Montarry J.** (2016) Occurrence of the tobacco cyst nematode subspecies *Globodera tabacum* subsp. *virginiae* in France. *European Journal of Plant Pathology* **144**: 199-203. (IF = 1.5)
- [P27] Pasco C., **Montarry J.**, Marquer B. and Andrivon D. (2016) And the nasty ones lose in the end: foliar pathogenicity trades off with asexual transmission in the Irish famine pathogen *Phytophthora infestans*. *New Phytologist* **209**: 334-342. (IF = 7.3)
- [P26] **Montarry J.**, Jan P.L., Gracianne C., Overall A.D.J., Bardou-Valette S., Olivier E., Fournet S., Grenier E. and Petit E.J. (2015) Heterozygote deficits in cyst plant-parasitic nematodes: possible causes and consequences. *Molecular Ecology* **24**: 1654-1667. (IF = 5.9)
- [P25] Alenda C., **Montarry J.** and Grenier E. (2014) Human influence on the dispersal and genetic structure of French *Globodera tabacum* populations. *Infection, Genetics and Evolution* **27**: 309-317. (IF = 3.0)
- [P24] Glais I., **Montarry J.**, Corbière R., Pasco C., Marquer B., Magalon H. and Andrivon D. (2014) Long-distance gene flow outweighs local selection and explains local maladaptation in the Irish famine pathogen *Phytophthora infestans*. *Evolutionary Applications* **7**: 442-452. (IF = 3.9)
- [P23] Ben Tamarzizt H., **Montarry J.**, Girardot G., Fakhfakh H., Tepfer M. and Jacquemond M. (2013) *Cucumber mosaic virus* (CMV) populations in Tunisian pepper crops are mainly composed of virus reassortants with resistance-breaking properties. *Plant Pathology* **62**: 1415-1428. (IF = 2.9)
- [P22] Boucher A.C., Mimee B., **Montarry J.**, Bardou-Valette S., Bélair G., Moffett P. and Grenier E. (2013) Genetic diversity of the golden potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* and determination of the origin of populations in Quebec, Canada. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **69**: 75-82. (IF = 4.0)
- [P21] Andrivon D., **Montarry J.**, Corbière R., Pasco C., Glais I., Marquer B., Clément J., Castel M. and Hamelin F.M. (2013) The hard life of *Phytophthora infestans*: when trade-offs shape evolution in a biotrophic plant pathogen. *Plant Pathology* **62**(Suppl. 1): 28-35. (IF = 2.9)
- [P20] Quenouille J., **Montarry J.**, Palloix A. and Moury B. (2013) Farther, slower, stronger: how the plant genetic background protects a major resistance gene from breakdown. *Molecular Plant Pathology* **14**: 109-118. (IF = 4.5)
- [P19] Fournet S., Kerlan M.C., Renault L., Dantec J.P., Rouaux C. and **Montarry J.** (2013) Selection of nematodes by resistant plants has implications for local adaptation and cross-virulence. *Plant Pathology* **62**: 184-193. (IF = 2.9)
- [P18] **Montarry J.**, Cartier E., Jacquemond M., Palloix A. and Moury B. (2012) Virus adaptation to quantitative plant resistance: erosion or breakdown? *Journal of Evolutionary Biology* **25**: 2242-2252. (IF = 3.5)
- [P17] Mailleret L., Castel M., **Montarry J.** and Hamelin F.M. (2012) From elaborate to compact seasonal plant epidemic models and back: is competitive exclusion in the details? *Theoretical Ecology* **5**: 311-324. (IF = 2.1)
- [P16] Fabre F.\*, **Montarry J.\***, Coville J.\*, Senoussi R., Simon V. and Moury B. (2012) Modelling the evolutionary dynamics of viruses within their hosts: a case study using high-throughput sequencing. *PLoS Pathogens* **8**: e1002654. (IF = 8.1)

\* Les auteurs ont contribué de façon équivalente à ce travail de recherche

- [P15] **Montarry J.**, Doumayrou J., Simon V. and Moury B. (2011) Genetic background matters: A plant-virus gene-for-gene interaction is strongly influenced by genetic contexts. *Molecular Plant Pathology* **12**: 911-920. (IF = 3.9)
- [P14] Dufour M.C., **Montarry J.** and Corio-Costet M.F. (2011) High-throughput SNP allele-frequency determination of genetic groups and DMI resistant of *Erysiphe necator* in field samples by a real-time PCR assay. *Pest Management Science* **67**: 60-67. (IF = 2.3)
- [P13] **Montarry J.**, Hamelin F.M., Glais I., Corbière R. and Andrivon D. (2010) Fitness costs associated with unnecessary virulence factors and life history traits: evolutionary insights from the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*. *BMC Evolutionary Biology* **10**: 283. (IF = 3.7)
- [P12] Moury B., Fabre F., **Montarry J.**, Janzac B., Ayme V. et Palloix A. (2010) L'adaptation des virus de plantes aux résistances variétales. *Virologie* **14**: 227-239. (IF = 0.2)
- [P11] Morris C., Sands DC, Vanneste J., **Montarry J.**, Oakley B., Guilbaud C. and Glaux C. (2010) Inferring the evolutionary history of the plant pathogen *Pseudomonas syringae* from its biogeography in headwaters of rivers in North America, Europe and New Zealand. *mBio* **1**: e00107-10. (IF<sub>2011</sub> = 5.3)
- [P10] **Montarry J.**, Andrivon D., Glais I., Mialdea G., Corbière R. and Delmotte F. (2010) Microsatellite markers reveal two genetic groups in the French population of the invasive plant pathogen *Phytophthora infestans*. *Molecular Ecology* **19**: 1965-1977. (IF = 6.5)
- [P9] Janzac B., **Montarry J.**, Palloix A., Navaud O. and Moury B. (2010) A point mutation in the polymerase of *Potato virus Y* confers virulence towards the *Pvr4* resistance of pepper and a high competitiveness cost in susceptible cultivar. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **23**: 823-830. (IF = 4.0)
- [P8] **Montarry J.**, Cartolaro P., Richard-Cervera S. and Delmotte F. (2009) Spatio-temporal distribution of *Erysiphe necator* genetic groups and their relationship with disease level in vineyards. *European Journal of Plant Pathology* **123**: 61-70. (IF = 1.9)
- [P7] Corbière R., **Montarry J.**, Glais I., Viard A. and Andrivon D. (2009) Aggressiveness differences between A1 and A2 isolates of *Phytophthora infestans* from France. *PPO-Special Report* **13**: 207-214. (sans IF)
- [P6] **Montarry J.**, Cartolaro P., Delmotte F., Jolivet J. and Willocquet L. (2008) Genetic structure and aggressiveness of *Erysiphe necator* populations during grapevine powdery mildew epidemics. *Applied and Environmental Microbiology* **74**: 6327-6332. (IF = 3.8)
- [P5] **Montarry J.**, Glais I., Corbière R. and Andrivon D. (2008) Adaptation to the most abundant host genotype in an agricultural plant-pathogen system – potato late blight. *Journal of Evolutionary Biology* **21**: 1397-1407. (IF = 3.5)
- [P4] **Montarry J.**, Corbière R. and Andrivon D. (2007) Is there a trade-off between aggressiveness and over-winter survival in *Phytophthora infestans*? *Functional Ecology* **21**: 603-610. (IF = 3.2)
- [P3] Andrivon D., Pilet F., **Montarry J.**, Hafidi M., Corbière R., Achbani E.H., Pellé R. and Ellissèche D. (2007) Adaptation of *Phytophthora infestans* to partial resistance in potato: evidence from French and Moroccan populations. *Phytopathology* **97**: 338-343. (IF = 2.4)
- [P2] **Montarry J.**, Corbière R., Lesueur S., Glais I. and Andrivon D. (2006) Does selection by resistant hosts trigger local adaptation in plant-pathogen systems? *Journal of Evolutionary Biology* **19**: 522-531. (IF = 3.0)
- [P1] Andrivon D., Corbière R., Lebreton L., Pilet F., **Montarry J.**, Pellé R. and Ellissèche D. (2004) Host adaptation in *Phytophthora infestans*: a review from a population biology perspective. *Plant Breeding and Seed Science* **50**: 15-27. (sans IF)

### Publications marquantes

J'ai retenu six publications marquantes de ma carrière et j'explique ci-dessous en quoi elles sont marquantes :

- [P4] Montarry J., Corbière R. and Andrivon D. (2007) Is there a trade-off between aggressiveness and over-winter survival in *Phytophthora infestans*? *Functional Ecology* 21: 603-610.**

Ce papier correspond à une partie de ma thèse qui n'était absolument pas prévue dans le programme initial, ce qui illustre l'importance de laisser aux doctorants la possibilité de faire preuve d'initiatives. C'est aussi par conséquent la première expérimentation que j'ai prise en charge depuis l'identification de la question de recherche jusqu'à la valorisation, en passant par la conception/réalisation de l'expérimentation et l'analyse des données. Une originalité de ce travail est d'étudier la phase de survie inter-épidémique. Les cycles des agents pathogènes sont caractérisés par une alternance entre phase épidémique et phase de survie et cette dernière est relativement peu étudiée, alors que la fitness correspond à la capacité à se reproduire et à survivre. Les résultats de l'étude n'ont pas permis de mettre en évidence de trade-off entre l'agressivité épidémique et la capacité de survie inter-épidémique. Ce papier montre ainsi qu'un résultat négatif peut (à condition que l'hypothèse testée soit clairement posée au départ) et doit être publié.

- [P13] Montarry J., Hamelin F.M., Glais I., Corbière R. and Andrivon D. (2010) Fitness costs associated with unnecessary virulence factors and life history traits: evolutionary insights from the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*. *BMC Evolutionary Biology* 10: 283.**

J'ai retenu ce papier car c'est le premier dans lequel je me suis intéressé à un coût de fitness lié à l'adaptation des agents pathogènes aux résistances des plantes. Ce concept de coût de virulence est central pour la gestion durable des résistances, et donc central aussi dans mes travaux de recherche. Ce papier montre que chez *Phytophthora infestans* les coûts de virulence sont faibles mais additifs. J'ai depuis recherché des coûts de virulence chez les virus et les nématodes et montré que parfois le coût de virulence ne s'exprime que lors de la compétition entre virulents et avirulents. J'ai aussi mis en évidence, chez le virus Y de la pomme de terre, que l'adaptation à une résistance partielle pouvait également être associée à un coût de fitness sur une plante sensible.

- [P16] Fabre F.\*, Montarry J.\*, Coville J.\*, Senoussi R., Simon V. and Moury B. (2012) Modelling the evolutionary dynamics of viruses within their hosts: a case study using high-throughput sequencing. *PLoS Pathogens* 8: e1002654.**

Deux raisons majeures m'ont amené à retenir ce papier. La première est qu'il montre la plus-value d'associer expérimentation et modélisation, et au passage ma capacité à interagir et travailler avec des modélisateurs. Et la seconde est qu'il correspond à ma première utilisation des NGS (454 dans le cas présent). Et pour la petite histoire, sans réelle compétences en

bioinformatique, nous avons (merci à Benoit et Fred) codé un script R pour identifier les mutations et les haplotypes en transformant les séquences en une matrice numérique (A=0, C=1, G=3 et T=7) de telle sorte que la différence entre la matrice et la séquence de référence donne un résultat différent pour chacune des six substitutions possibles. Mais c'est aussi dans ce papier que je me suis intéressé pour la première fois à la taille efficace, ici afin de quantifier l'intensité de la dérive génétique lors de l'infection en systémie de la plante.

**[P26] Montarry J., Jan P.L., Gracianne C., Overall A.D.J., Bardou-Valette S., Olivier E., Fournet S., Grenier E. and Petit E.J. (2015) Heterozygote deficits in cyst plant-parasitic nematodes: possible causes and consequences. *Molecular Ecology* 24: 1654-1667.**

Ce papier de génétique des populations a permis d'explorer les causes du déficit en hétérozygotes chez trois espèces de nématodes à kyste (*G. pallida*, *G. tabacum* et *H. schachtii*), c'est-à-dire de dissocier consanguinité et effet Walhund (sous-structuration) après avoir écarté l'effet des allèles nuls. Cette même méthode a été récemment appliquée à une quatrième espèce (*H. carotae*). L'ensemble des résultats semble montrer qu'un kyste isolé produit une descendance issue de croisements consanguins et qu'une sous-structuration se met en place à l'échelle de la plante lors des générations suivantes chez les espèces polyvoltines. Cette consanguinité peut avoir des conséquences importantes pour l'adaptation aux résistances, puisque la virulence est généralement récessive.

**[P36] Eoche-Bosy D., Gautier M., Esquibet M., Legeai F., Bretaudeau A., Bouchez O., Fournet S., Grenier E. and Montarry J. (2017) Genome scans on experimentally evolved populations reveal candidate regions for adaptation to plant resistance in the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Molecular Ecology* 26: 4700-4711.**

Ce papier est issu de la thèse de Delphine Eoche-Bosy que j'ai encadrée de 2013 à 2016. Cette thèse m'a permis de prendre le virage de la génétique vers la génomique des populations. L'approche de genome scan que nous avons réalisé sur des populations virulentes et avirulentes issues d'évolution expérimentale a permis d'identifier des régions génomiques potentiellement impliquées dans l'adaptation de *G. pallida* à la résistance de la pomme de terre. Ce travail ouvre des perspectives passionnantes dans un contexte où les premières populations naturelles virulentes ont été détectées en Europe.

**[P41] Montarry J., Bardou-Valette S., Mabon R., Jan P.L., Fournet S., Grenier E. and Petit E.J., (2019) Exploring the causes of small effective population sizes in cyst nematodes using artificial *Globodera pallida* populations. *Proceedings of the Royal Society of London B – Biological Sciences* 286: 20182359.**

La publication de ce travail est récente, et évidemment on est souvent plus fier de nos travaux récents que des plus anciens (ce qui est plutôt bon signe), mais ce n'est pas l'unique raison de ce choix. Ce papier de génétique des populations a une plus longue histoire car il correspond à une expérimentation que j'ai menée juste après mon recrutement. Après avoir estimé la taille efficace chez des virus de plante, j'avais à cœur d'explorer la dérive génétique chez les

nématodes. Cette force évolutive n'est encore pas suffisamment considérée alors qu'elle est essentielle, comme le montre ce papier, dans le processus d'adaptation des agents pathogènes aux méthodes de lutte. Ce travail n'ayant pas impliqué de doctorant, j'ai pu prendre beaucoup (trop) de temps pour l'analyse des données et la rédaction et j'ai pu également prendre le temps de considérer pleinement les remarques et suggestions de recommanders de la PCI Evol Biol, de collègues suite à des présentations dans l'unité et lors du dernier congrès de l'ESN et de reviewers de Proc R Soc London B, en retravaillant en profondeur le papier et en y ajoutant de nouvelles simulations. Ce papier illustre donc pour moi la plus-value de mener de front des recherches à deux vitesses, c'est-à-dire de maintenir, en parallèle de projets à durée déterminée sur lesquels nous pouvons impliquer des doctorants, des expérimentations de plus long terme, que l'organisation de la recherche publique française permet (encore).

## Introduction

Les maladies des plantes occasionnant de fortes pertes de rendement, la protection des cultures contre les agents pathogènes est indispensable. Les produits de l'industrie chimique ont apporté des solutions efficaces aux problèmes de protection des cultures, mais de nombreuses études ont montré les effets néfastes de l'utilisation des pesticides sur la santé des utilisateurs et/ou des consommateurs et sur l'environnement. Le Grenelle de l'environnement (2008), les deux plans successifs Ecophyto et la directive européenne 2009/128/CE ont mis la recherche agronomique au défi d'**émanciper l'agriculture de la protection chimique**. Après une dizaine d'années, il apparaît assez clairement que cette émancipation ne passera pas par un simple ajustement, en remplaçant un produit chimique par une autre solution plus respectueuse de l'environnement, mais qu'elle nécessitera une re-conception profonde. Il est en effet clair que seule la combinaison de plusieurs solutions de protection des cultures pourrait permettre d'atteindre des seuils d'efficacité proches des solutions chimiques classiques. C'est ainsi que le **biocontrôle** et le **microbiote** associé à la plante (phytobiome) prennent une place de plus en plus grande à côté de la notion de **gestion durable des résistances**.

L'expertise collective INRA récente intitulée 'Peut-on se passer du cuivre en protection des cultures biologiques ?' a permis d'explorer différentes solutions alternatives aux usages phytosanitaires du cuivre (préparations naturelles biocides, lutte biologique, résistances des plantes, stimulateurs des défenses des plantes, lutte prophylactiques, protection physique et conduite des couverts). Ces alternatives, qui ne concernent pas uniquement l'agriculture biologique et pas uniquement les agents pathogènes contrôlés par le cuivre (i.e. mildiou de la pomme de terre et de la tomate, mildiou de la vigne, tavelure du pommier, mildiou de la laitue pour ne citer que les principaux), sont également pertinentes dans une perspective de réduction ou d'abandon des produits phytosanitaires chimiques en général. Cette étude bibliographique montre qu'il sera difficile de remplacer l'emploi des produits cuivriques par un seul levier alternatif (logique de substitution) et donc la nécessité de combiner des leviers à efficacités partielles (logique de re-conception) pour assurer un niveau d'efficacité et une durabilité au moins équivalents à ceux des systèmes actuels. Et l'une des principales conclusions de l'expertise est que les systèmes intégrés de protection envisageables devront inclure la résistance génétique des plantes.

La création et le déploiement de variétés résistantes est donc une méthode de protection des plantes très intéressante pour limiter l'emploi des produits phytosanitaires. L'amélioration des connaissances en génétique végétale a permis aux sélectionneurs d'introduire des facteurs de résistance dans les variétés cultivées à partir de ressources génétiques diversifiées, notamment grâce à des croisements avec des espèces sauvages apparentées. Je distinguerai principalement ici deux types de résistance chez les plantes : les résistances qualitatives et les résistances quantitatives ([Encadré 1](#)).

### Encadré 1 : Les différents types de résistances hôtes

Les **résistances qualitatives**, aussi appelées résistances spécifiques, sont actives uniquement contre certains génotypes du parasite (*i.e.* les individus avirulents). Elles sont généralement mono- ou oligo-géniques et totales puisqu'elles empêchent complètement le développement de la maladie. Elles se traduisent le plus souvent par une réaction hypersensible, c'est-à-dire une nécrose cellulaire limitée au site d'infection. Pour la plupart, ces résistances suivent le modèle 'gène-pour-gène' (Flor 1971) : c'est l'interaction (directe ou indirecte) entre le produit du gène de résistance de la plante et le produit du gène d'avirulence du parasite qui aboutit à la résistance. Elles correspondent à l'ETI (*Effector-Triggered Immunity*) du modèle en zig-zag de Jones & Dangl (2006). Du fait de leurs très forts effets génétique (hérédité simple) et phénotypique (blocage complet des infections), les gènes de résistance qualitative sont très souvent qualifiés de 'gènes majeurs de résistance', et notés 'R'. La forte pression de sélection exercée par la culture à grande échelle de telles variétés résistantes a fréquemment induit l'émergence de populations parasitaires adaptées, qualifiées de virulentes.

Pour leur part, les **résistances quantitatives** sont généralement actives vis-à-vis de l'ensemble des génotypes du parasite, et donc qualifiées de non spécifiques. Elles sont le plus souvent polygéniques, c'est-à-dire déterminées par un nombre parfois élevé de QTL de résistance à effet individuel modéré. Ce déterminisme génétique complexe rend ardue la sélection de ces résistances. Les résistances quantitatives se traduisent par une réduction de la sévérité des symptômes (taille des lésions, vitesse d'extension) par rapport aux témoins sensibles. Elles peuvent réduire également la reproduction du parasite, mais ne l'empêche généralement pas entièrement. Ce sont donc des résistances partielles, car elles ne permettent pas de bloquer entièrement le cycle de développement du parasite, mais simplement de le ralentir. Pour Jones & Dangl (2006), ces résistances quantitatives non spécifiques correspondraient à la PTI (*Pathogen-Triggered Immunity*). Sur la base de différents arguments théoriques (e.g. elles exerceraient une pression de sélection moins forte sur les populations de parasites, les chemins mutationnels conduisant à l'adaptation seraient plus complexes), les résistances quantitatives des plantes sont supposées être plus durables que les résistances qualitatives. De fait, les cas rapportés d'érosion de résistances partielles sont bien moins nombreux que ceux de contournement de résistances totales.

La classification des résistances selon leur niveau d'efficacité d'une part (résistances totales ou partielles), leur déterminisme génétique d'autre part (résistances mono- ou polygéniques) et leur niveau de spécificité en troisième lieu (résistance spécifique ou non spécifique) n'est pas entièrement congruente. Ainsi, si les résistances quantitatives sont généralement non spécifiques, il existe de nombreux QTL qui n'agissent que contre certaines souches du parasite (ils sont donc spécifiques de ces souches). Il est par conséquent essentiel de ne pas confondre dans une généralisation abusive les trois caractères principaux des résistances : leur niveau d'efficacité, leur hérédité et leur spectre d'action.

Le temps nécessaire pour observer en conditions de culture des événements de contournement des résistances (qualitatives et quantitatives) se révèle très variable. Alors que certains gènes de résistance demeurent efficaces après plusieurs décennies d'utilisation intensive, d'autres ont été contournés en quelques années, voire seulement en quelques mois. L'émergence de populations parasitaires virulentes (Encadré 2) condamne parfois très rapidement cette méthode de lutte, alors que la durée nécessaire aux sélectionneurs pour créer

et commercialiser une variété porteuse d'un nouveau gène de résistance reste très longue, l'introggression de gènes de résistance dans des cultivars 'élite' prenant jusqu'à 15-20 ans via la sélection traditionnelle. Il est néanmoins possible de réduire le temps nécessaire à la création de nouvelles variétés par le biais de la sélection assistée par marqueurs (Tanksley et al 1989, Schneider et al 1997, Rommens & Kishore 2000).

### Encadré 2 : Le terme 'virulence' en phytopathologie

La terminologie utilisée pour décrire l'effet des parasites sur leurs hôtes diffère entre, d'un côté, les phytopathologistes et, de l'autre, les biologistes de l'évolution et les pathologistes des animaux. En phytopathologie (Watson 1970), la '**virulence**' désigne la composante qualitative binaire du pouvoir pathogène (capacité ou non à infecter un génotype hôte) alors que l'**'agressivité'** représente sa composante quantitative (sévérité des symptômes ou effet de l'infection sur la fitness de l'hôte). En biologie évolutive et en pathologie animale (Thomas & Elkinton 2004), le terme '**virulence**' désigne la sévérité des symptômes et des dégâts infligés à l'hôte (et équivaut donc à l'agressivité des phytopathologistes), la composante qualitative (virulence des phytopathologistes) étant appelée '**infectivité**'. Il faut également noter que la virulence (ou l'infectivité) est qualitative au niveau individuel (un individu a ou non la capacité à infecter l'hôte), mais elle devient quantitative au niveau populationnel (les populations peuvent donc avoir des niveaux de virulence différents selon la proportion d'individus virulents qu'elles contiennent).

Au cours des années 2000, la notion de 'résistance durable', telle que définie par Johnson (1984), s'est progressivement effacée au profit de la notion de 'gestion durable des résistances'. Pour Johnson (1984), une résistance est durable si elle a conservé son efficacité suite à son déploiement sur de grandes surfaces et sur une longue durée, dans un environnement favorable au développement de l'agent pathogène. Ainsi définie, la durabilité d'une résistance ne peut en pratique être quantifiée qu'*a posteriori*, après son contournement. Outre cette limite opérationnelle, il est difficile de concevoir la durabilité comme une propriété intrinsèque d'un gène de résistance. Elle résulte plutôt d'une combinaison d'effets opérant de l'échelle du gène à l'échelle du bassin de production. L'objectif de la gestion durable des résistances est donc de proposer des stratégies de déploiement des résistances qui permettent de réduire simultanément 1) le développement des épidémies à court terme et 2) la probabilité d'adaptation des agents pathogènes sur le long terme (Burdon et al 2016). Dans ce contexte, **le dilemme du sélectionneur** est de choisir, le plus en amont possible des programmes de sélection, les gènes ou les combinaisons de gènes de résistance potentiellement les plus durables. **Le dilemme de l'agriculteur** consiste lui à déployer de façon optimale, dans le temps et dans l'espace, les variétés résistantes et sensibles à leur disposition pour assurer une production économiquement et écologiquement durable. Il faut cependant garder à l'esprit que, dans un objectif de gestion durable des résistances, dilemme du sélectionneur et dilemme de l'agriculteur sont indissociables.

L'étude de la durabilité des résistances a pour objectif de concevoir et d'analyser des stratégies de gestion des résistances des plantes cultivées. Ces stratégies, pour être efficaces, doivent intégrer des connaissances sur l'évolution des populations pathogènes (McDonald & Linde 2002), puisque la durabilité d'une résistance dépend notamment de la vitesse d'adaptation des populations pathogènes à la sélection qu'exerce cette résistance. Comprendre

la sélection exercée par la plante hôte et ses conséquences sur la structure des populations pathogènes est essentiel à la gestion des maladies des plantes par voie génétique, que ce soit *via* la création variétale ou *via* l'identification des meilleures stratégies de déploiement de ces variétés dans le temps et dans l'espace.

Les résistances partielles (quantitatives) sont actuellement recherchées en priorité dans les programmes d'amélioration des plantes pour la résistance aux bioagresseurs, car elles sont supposées plus durables que les résistances totales (qualitatives). Toutefois, il existe peu de données concernant le niveau de variabilité des populations pathogènes vis-à-vis de ce type de résistance. La mesure de cette variabilité est importante pour évaluer la nature et l'intensité des pressions sélectives, et donc la capacité d'adaptation des populations pathogènes aux résistances partielles. Enfin, si l'évolution des populations pathogènes est fortement dépendante de la sélection imposée par les plantes hôtes pendant les épidémies, elle dépend également des phénomènes de sélection imposés à ces populations entre les épidémies, et des trade-offs (ou compromis évolutifs) éventuels entre le pouvoir pathogène et la capacité de survie.

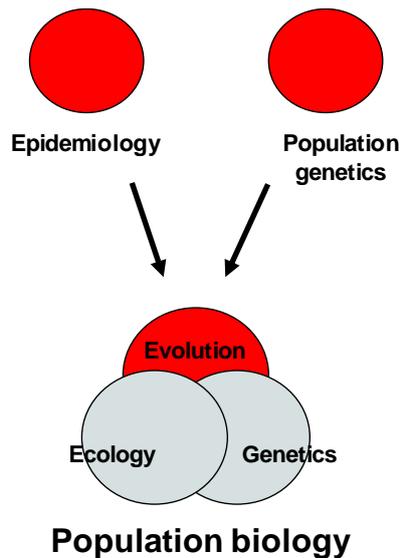
L'identification de la nature moléculaire des gènes de résistance chez les plantes, bien qu'essentielle pour l'étude de la durabilité des résistances, n'a pour l'instant pas permis d'établir une relation claire entre la structure ou la fonction des gènes de résistance et leur durabilité. En revanche, des avancées ont été réalisées en s'intéressant à l'évolution des populations pathogènes (McDonald & Linde 2002).

Afin d'identifier des critères pour inclure la durabilité des résistances dans les schémas de sélection et de déploiement des résistances, il me semble nécessaire de coupler des approches d'**évolution expérimentale** et de **génétique/génomique des populations** afin d'évaluer la part relative de différentes forces évolutives lors de l'adaptation des agents pathogènes aux résistances des plantes. Les recherches que je mène s'inscrivent dans cette thématique de la gestion durable des résistances des plantes aux maladies et mon parcours m'a amené à travailler sur les oomycètes, les champignons, les virus et les nématodes.

J'ai organisé le texte de ce rapport de manière quasi-chronologique afin de mettre en évidence le cheminement intellectuel et scientifique qui m'a amené jusqu'à mon(mes) sujet(s) de recherche actuel(s). Les trois parties suivantes vont ainsi concerner 1) les recherches doctorales et post-doctorales que j'ai menées sur différents pathosystèmes, 2) mes recherches actuelles sur différentes espèces de nématodes à kyste et 3) mes perspectives de travail.

## Recherche doctorale et postdoctorale - Différents pathosystèmes étudiés

### *Phytophthora infestans*, l'oomycète responsable du mildiou de la pomme de terre



La biologie des populations est un champ interdisciplinaire qui intègre l'épidémiologie et la génétique des populations, en se basant sur des concepts d'évolution, d'écologie et de génétique (Milgroom 2001).

Pendant ma thèse j'ai utilisé des approches de biologie des populations, qui combinent épidémiologie et génétique des populations, pour aborder des questions d'évolution sur des populations de *Phytophthora infestans*, l'oomycète responsable du mildiou de la pomme de terre.

Mes travaux de recherche sur ce pathosystème m'ont amené à manipuler de nombreux concepts. J'ai par exemple testé l'existence de  **patrons d'adaptation locale**  à différentes échelles spatiales et tenté de relier le patron observé à la  **structuration génétique des populations**  de *P. infestans*. J'ai étudié la  **capacité d'adaptation aux résistances partielles**  des populations de *P. infestans* et ai recherché d'éventuels  **coût de virulence**  associé à l'adaptation aux résistances totales. Et je me suis également intéressé aux phénomènes de sélection imposés à ces populations lors de la phase inter-épidémique en testant l'hypothèse d'un  **trade-off entre agressivité et capacité de survie** .

Et plus récemment, de 2013 à 2015, j'ai co-encadré, avec Didier Andrivon, la thèse de Nicolas Mariette qui a travaillé sur les traits d'histoire de vie, l'adaptation et le pouvoir invasif de lignées clonales de *P. infestans*.

Le couple *Phytophthora infestans* / *Solanum tuberosum* (Fig. 1) présente de nombreux avantages pour l'étude de la réponse adaptative des populations pathogènes au déploiement des résistances des plantes : i) les caractéristiques biologiques de cet oomycète (brièveté du cycle, grande taille des populations, taux de multiplication important) confèrent aux populations de *P. infestans* une capacité d'évolution rapide ; ii) des variétés de pomme de terre avec des résistances totales ou partielles sont disponibles et déployées sur différentes échelles spatiales et temporelles ; iii) *P. infestans* est l'agent pathogène le plus dommageable des cultures de pomme de terre, ce qui lui confère une importance économique majeure (Haverkort et al., 2008).



**Figure 1** : Symptômes sur les différents organes de la plante (crédit photos : R. Corbière).

- A** : Au niveau des bouquets terminaux, les attaques se manifestent par un brunissement et un recroquevillement des feuilles apicales. Sur tige, les symptômes se manifestent par l'apparition de nécroses brun-violacées.
- B** : Sur les feuilles, les premiers symptômes sont des tâches décolorées et d'aspect huileux qui brunissent rapidement et s'entourent d'un liseré clair sur la face supérieure du limbe.
- C** : Sur tubercules, des tâches superficielles irrégulières, gris-bleuâtres, violacées ou brunes sont observées.
- D** : Au champ, les plantes atteintes sont noirâtres, comme si elles étaient brûlées.

Afin d'étudier la capacité d'adaptation des populations de *P. infestans* aux résistances de la pomme de terre, mes objectifs étaient : i) de tester l'existence de patrons d'adaptation locale aux variétés de pomme de terre à l'échelle de la parcelle et de bassins de production, ii) de rechercher et mesurer d'éventuels coûts de virulence (liés à l'adaptation aux résistances totales) et iii) de déterminer si la survie des souches de *P. infestans* pendant la période hivernale est dépendante de leur agressivité.

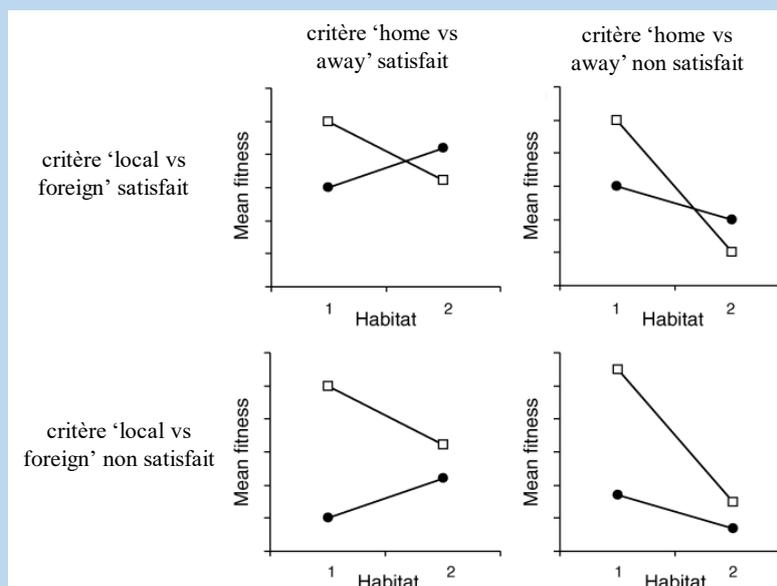
Les données issues d'un échantillonnage réalisé à l'échelle d'une parcelle sur deux variétés de pomme de terre ( Bintje, sensible et Désirée, partiellement résistante) ont montré que les isolats originaires de Bintje sont plus agressifs que ceux provenant de Désirée que ce soit sur Bintje ou sur Désirée, donc sans adaptation différentielle entre ces deux génotypes ([P2]). Ce résultat suggère que la population locale de *P. infestans* est mieux adaptée à la variété la plus abondante, puisqu'à l'échelle de la France Désirée est beaucoup moins cultivée que Bintje, hypothèse que nous avons testée à une échelle spatiale plus large.

Les variétés de pomme de terre sont réparties sur le territoire français en fonction des types de production, chaque région employant de manière prédominante et persistante une variété adaptée à son propre marché. Ce paysage variétal offre la possibilité d'étudier l'effet

d'une pression sélective maintenue pendant de nombreuses saisons à l'échelle régionale, sur le niveau d'adaptation des populations de *P. infestans* aux variétés dominantes. L'objectif de cette étude était de déterminer si la culture prédominante d'une variété sélectionne des souches du parasite plus particulièrement adaptées à cette variété. En d'autres termes, il s'agissait de tester l'hypothèse d'adaptation locale (**Encadré 3**) des populations de *P. infestans* aux variétés de pomme de terre, à l'échelle spatiale de bassins de production.

### Encadré 3 : L'hypothèse d'adaptation locale

L'existence de patrons d'adaptation locale est généralement testée par des expériences de transplantation entre les environnements (ou habitats) des populations d'agents pathogènes (Blanquart et al 2013). Il existe alors deux critères complémentaires permettant de tester l'hypothèse d'adaptation locale (Fig. 2, d'après Kawecki & Ebert 2004) : le **critère 'home vs. away'** qui consiste à comparer la performance d'une population dans son habitat d'origine et dans d'autres habitats (permet dans notre cas de savoir si les souches originaires d'un bassin sont plus agressives sur la variété qui domine ce bassin que sur d'autres variétés) et le **critère 'local vs. foreign'**, où on compare cette fois la performance d'une population dans son habitat d'origine à celle de populations provenant d'autres habitats (permet dans notre cas de savoir si, sur une variété donnée, les souches originaires du bassin dominé par cette variété sont plus agressives que des souches originaires d'autres bassins).

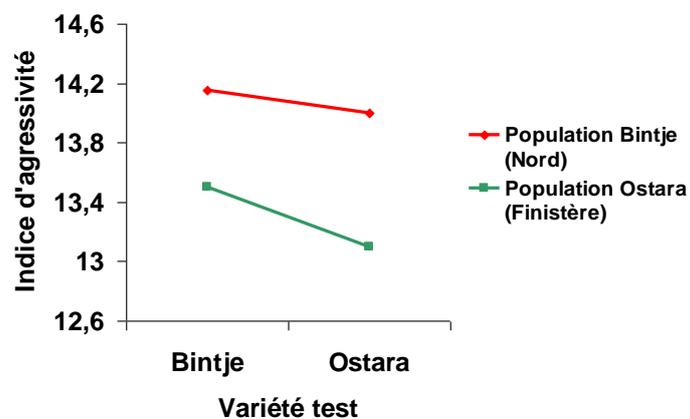


**Figure 2.** Patrons hypothétiques d'une interaction entre deux populations et deux habitats. Les carrés blancs représentent la fitness de la population provenant de l'environnement 1 et les ronds noirs représentent la fitness de la population provenant de l'environnement 2.

Un important échantillonnage (596 isolats) a été réalisé lors de deux années consécutives dans deux bassins de productions : le nord de la France, dominé par la variété Bintje, et le Finistère, dominée par la variété Ostara, ces variétés étant toutes les deux sensibles au mildiou. Des tests d'agressivité ont été réalisés sur les variétés sympatriques et allopatriques par inoculations croisées (période de latence [lat], taille des lésions [tl] et sporulation [sp]). Ces

trois composantes d'agressivité permettent de calculer un indice d'agressivité ( $A_i = \ln [(tl * sp) / lat]$  – Day & Shattock 1997, Flier & Turkensteen 1999) qui représente le potentiel épidémiologique des isolats. L'absence d'interaction entre populations pathogènes et populations hôtes montre qu'il n'y a pas d'adaptation locale (Fig. 3, [P5]). Pour le critère 'home vs. away', les souches provenant du nord de la France sont plus agressives sur la variété sympatrique, Bintje, que sur la variété allopatrique, Ostara, alors que les souches provenant du Finistère sont plus agressives sur la variété allopatrique, Bintje, que sur la variété sympatrique, Ostara. Donc, quel que soit le bassin d'origine des souches, elles sont plus agressives sur Bintje que sur Ostara. En ce qui concerne le critère 'local vs. foreign', sur la variété Bintje, la population résidente (celle du nord) est plus agressive que la population non-résidente, et sur Ostara, la population résidente (celle du Finistère) est moins agressive que la population non-résidente.

**Figure 3** : Agressivité selon les variétés tests (Bintje et Ostara) et les populations d'origine (Bintje pour le Nord et Ostara pour le Finistère) des isolats.

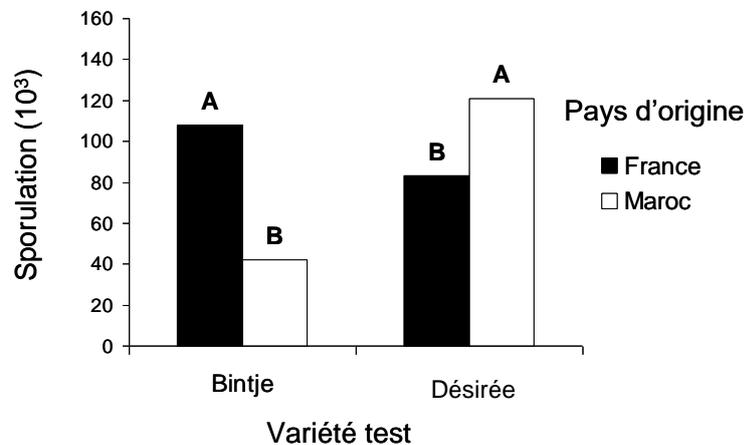


Nos résultats indiquent une absence d'adaptation (ou de maladaptation) locale à l'échelle régionale des bassins de production. Toutes les populations présentent une plus forte agressivité sur Bintje que sur Ostara. Le patron adaptatif émergent est une adaptation générale à la variété la plus cultivée sur le territoire, Bintje. Le patron d'adaptation générale observé serait en partie la conséquence d'importants flux de gènes entre les populations pathogènes des différentes régions. Effectivement, le génotypage microsatellite de l'ensemble des isolats collectés lors de ma thèse montre que les populations françaises sont très fortement clonales et indique l'existence d'importants flux de gènes dus à la migration de l'agent pathogène à l'échelle spatiale étudiée ([P5], [P10]) mais aussi entre des populations françaises et des populations échantillonnées sur l'île de Jersey ([P24]). D'autre part, le fait que des génotypes présents une année ne soient pas retrouvés la saison suivante, ou *vice versa*, indique que les populations de *P. infestans* présentent une dynamique d'extinction et de recolonisation qui provoque une dérive génétique importante d'une année à la suivante ([P5], [P10]).

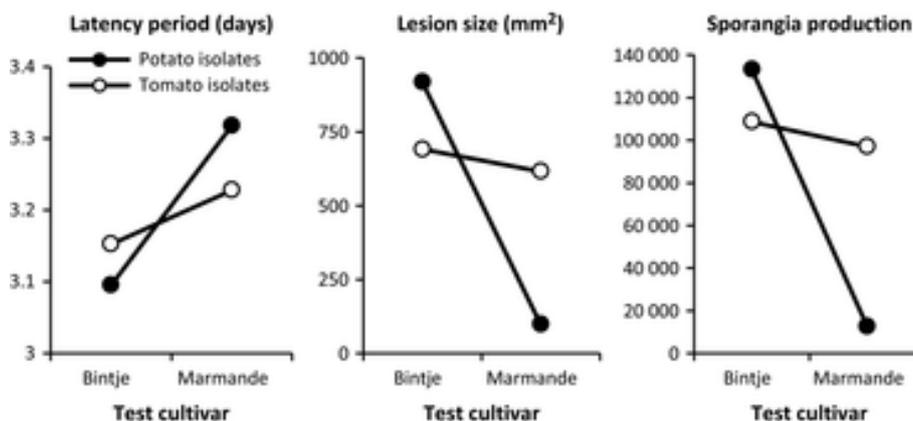
L'adaptation locale n'a été détectée ni à l'échelle locale, ni à l'échelle régionale, mais nous l'avons détectée à une échelle spatiale plus large, entre des populations marocaines et des populations françaises : les souches françaises produisent plus de spores sur la variété dominante Bintje (sensible) que sur Désirée (partiellement résistante), alors que les souches marocaines produisent plus de spores sur Désirée, qui est la variété dominante au Maroc, que sur Bintje (Fig.4, [P3]). Ces résultats confirment donc l'hypothèse postulant qu'un taux de dispersion important et une dérive génétique forte peuvent amener à un patron d'adaptation locale détectable seulement à une échelle spatiale large. Ils montrent aussi que les populations

de *P. infestans* sont capables de s'adapter aux variétés dépourvues de gènes majeurs de résistance et que les résistances partielles ne sont pas nécessairement durables. Ce type de données nous renseigne sur l'échelle spatiale à laquelle une variété peut être cultivée sans exercer de pression de sélection forte, ou du moins décelable, sur la population pathogène, ce qui constitue un élément important à intégrer dans les stratégies de déploiement des variétés.

**Figure 4 :** Agressivité (représentée ici par la sporulation) des populations françaises et marocaines de *P. infestans* sur les variétés Bintje et Désirée, dominantes en France et au Maroc respectivement.



Si le patron d'adaptation locale entre différentes variétés de pomme de terre n'est décelable qu'à une échelle très large, d'autres patrons d'adaptation locale ont été récemment mis en évidence chez *P. infestans*. Nicolas Mariette a mis en évidence lors de sa thèse un patron d'adaptation à la température entre populations (et au sein de lignées clonales) provenant du sud au nord de l'Europe ([P33]). Et Alexander Kröner a testé lors de son post-doctorat l'adaptation à l'espèce hôte via une expérimentation d'inoculation croisée entre des isolats provenant de pomme de terre et de tomate. Il a ainsi montré un patron d'adaptation différentielle à l'hôte : tous les isolats sont capables d'attaquer les deux espèces, mais sur chaque hôte, ce sont les isolats originaires de cet hôte qui sont plus performants que les isolats originaires de l'autre hôte (Fig. 5, [P35]). Ce résultat montre aussi que les isolats provenant de pomme de terre sont très spécialisés sur cet hôte alors que les isolats provenant de tomate sont beaucoup plus généralistes.



**Figure 5 :** Période de latence, taille de lésion et production de spores pour des isolats collectés sur pomme de terre et tomate et testés sur pomme de terre (Bintje) et tomate (Marmande).

Comme mentionné ci-dessus, presque 600 isolats ont été phénotypés pour trois traits de vie liés à l'agressivité (période de latence, taille des lésions et production de spores) sur différentes variétés de pomme de terre (dont la variété sensible Bintje) et génotypés en utilisant un set de 10 marqueurs microsatellites. Ces mêmes isolats ont aussi été phénotypés pour leur profil de virulence sur une gamme d'hôte différentielle (i.e. des génotypes de pomme de terre ayant chacun un gène majeur de résistance, de R1 à R11 dans le cas présent). Cet important jeu de données nous a permis d'explorer l'hypothèse de l'existence d'un coût de virulence ([Encadré 4](#)) chez *Phytophthora infestans*.

#### **Encadré 4 : Le coût de virulence**

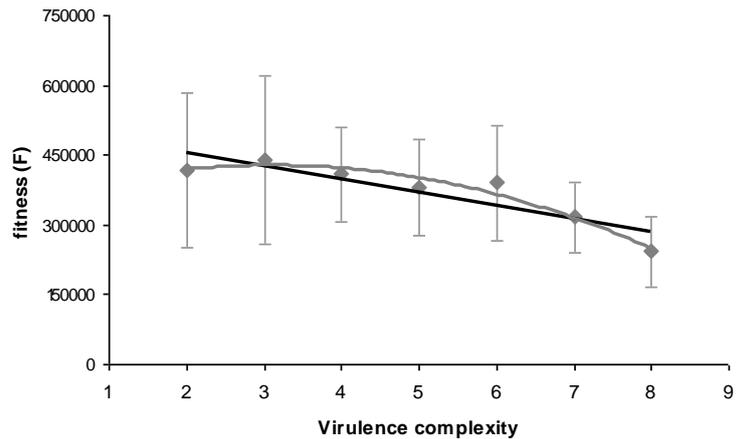
Les gènes d'avirulence des agents pathogènes sont avant tout impliqués dans diverses fonctions nécessaires à la réalisation de leurs cycles de vie. Leurs produits, détectés par la plante comme signant la présence d'une attaque parasitaire, déclenche une série de réactions de défense (Jones & Dangl 2006). Le gène de résistance correspondant est un des gènes impliqués dans la détection de ces molécules signatures. Dès lors, si une mutation au locus d'avirulence modifie cette signature au point d'empêcher la reconnaissance du parasite par la plante et ainsi permettre l'infection, elle peut aussi altérer la fonction initiale du gène concerné : c'est le coût de virulence, payé par le parasite virulent sur les hôtes dépourvus du gène de résistance correspondant. Ce coût de virulence, concept proposé en phytopathologie par van der Planck (1963), est donc un compromis évolutif entre la virulence (avantage à pouvoir infecter un hôte résistant) et la fitness sur les hôtes sensibles (désavantage de reproduction par rapport aux individus avirulents). Ce coût varie selon la fonction première du gène d'avirulence (Leach et al 2001) et les virulences associées à des coûts de fitness importants devraient correspondre à des résistances durables (Brown 2015).

La première démonstration directe d'un tel coût de virulence a été réalisée chez la bactérie pathogène du riz *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, en comparant des lignées isogéniques virulentes et avirulentes (Cruz et al 2000) : la souche virulente face au gène de résistance *Xa7* se révèle en effet moins performante que la souche avirulente. Des coûts de fitness associés à la virulence ont ensuite été mis en évidence chez des virus (Jenner et al 2002, Desbiez et al 2003, [\[P9\]](#), Poulicard et al 2010, Fraile et al 2011, Ishibashi et al 2012, Khatabi et al 2013) des champignons (Bahri et al 2009, Huang et al 2010, Caffier et al 2010, Bruns et al 2014), des oomycètes ([\[P13\]](#)), des bactéries (Leach et al 2001, Wichmann & Bergelson 2004) ou des nématodes (Castagnone-Sereno et al 2007).

La difficulté pour mesurer un coût de fitness associé à une virulence non nécessaire (c'est-à-dire sur hôte sensible) est de dissocier l'effet du gène de virulence de celui du reste du fond génétique. Le fort taux de clonalité dans les populations françaises de *P. infestans* nous a permis de contourner ce problème. Effectivement, parmi les 162 génotypes multilocus (MLG) identifiés, le MLG majoritaire regroupe 132 isolats quasi-isogéniques, puisqu'ayant les mêmes allèles aux 10 loci microsatellites, qui présentent 27 profils de virulence différents. Ceci nous a permis de mesurer d'éventuels coûts de fitness pour chaque virulence et de tester la corrélation entre la fitness et la complexité de virulence (allant de 2 à 8 facteurs de virulence). En associant un modélisateur (Frédéric Hamelin) à cette étude, nous avons également proposé un indice de fitness qui correspond au  $R_0$  des modèles épidémiologiques (i.e. le nombre d'infection secondaire générées par chaque lésion) et qui agrège les trois composantes d'agressivité mesurées [\[P13\]](#).

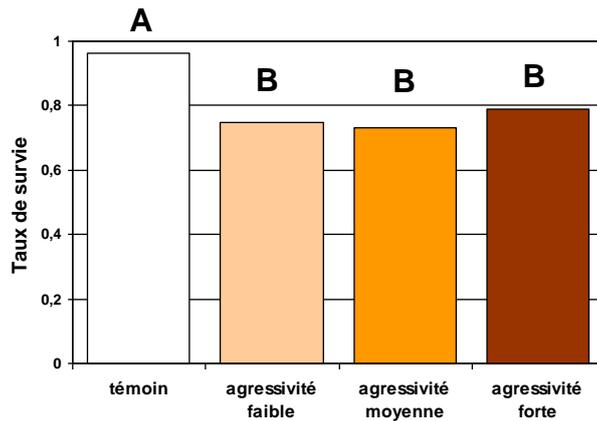
Nos résultats ont mis en évidence un coût de fitness associé à la virulence face au gène R10 et une absence de coût de virulence face aux autres gènes de résistance. Cependant, la corrélation négative ( $\rho = -0.195$  ;  $P = 0.026$ ) entre la fitness et la complexité de virulence (Fig. 6, [P13]) montre que les coûts individuels sont faibles mais cumulatifs. Le faible coût individuel peut être lié au fait que les gènes d'avirulence sont *a priori* présents en plusieurs copies dans le génome de *P. infestans* (Haas et al 2009) et le fait que le coût augmente avec chaque virulence additionnelle est tout à fait en accord avec les modèles théoriques expliquant le maintien du polymorphisme chez les gènes de résistance et d'avirulence dans les interactions gène-pour-gène (Tellier & Brown 2007a, Tellier & Brown 2007b).

**Figure 6** : Relation entre la fitness et la complexité de virulence (le nombre de gènes R contournés par l'isolat) pour les 132 isolats quasi-isogéniques de *P. infestans* testés sur la variété sensible Bintje.



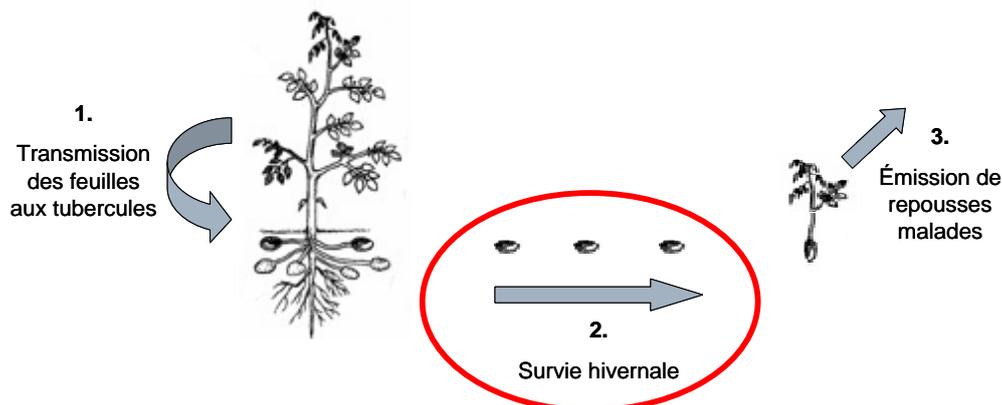
De très nombreux agents pathogènes de plantes présentent dans leur cycle une alternance entre des phases épidémiques et des phases de survie. L'évolution des populations pathogènes est fortement dépendante des forces évolutives agissant pendant les épidémies, mais il est également indispensable de comprendre celles œuvrant pendant les phases de survie. Le cycle de *P. infestans* présente cette alternance entre épidémie et survie. En France, où il n'y a pas ou peu de reproduction sexuée, la survie pendant l'hiver a lieu essentiellement sous forme de mycélium dans les tubercules qui restent dans les sols ou dans les tas de déchets laissés à proximité des parcelles. La survie de l'agent pathogène nécessite donc la survie de l'hôte. L'hypothèse formulée était que les souches les plus agressives sont contre-sélectionnées pendant la survie parce qu'elles tuent plus rapidement les tubercules qui leur permettent de survivre pendant l'hiver. Cette étude posait ainsi la question d'un trade-off entre agressivité et capacité de survie pendant l'hiver dans les populations clonales de *P. infestans*.

Pour tester cette hypothèse, des tubercules de la variété Bintje ont été inoculés avec neuf souches d'agressivité différentes : trois avec une faible agressivité, trois avec une agressivité moyenne, et trois avec une forte agressivité. Les tubercules ont été placés en tas laissés tout un hiver en extérieur, dans le but de déterminer le taux de survie des tubercules inoculés avec les différentes souches au printemps suivant. Cette expérimentation a été réalisée dans trois sites français, représentant trois conditions hivernales différentes. Nos résultats montrent que la survie des tubercules dans les tas témoins (constitués de tubercules non-inoculés) est supérieure à celle des tubercules dans les tas inoculés. Pour chacun des trois sites, il n'y a aucune différence entre les lots inoculés avec les souches d'agressivité différente (Fig. 7, [P4]).



**Figure 7 :** Survie des différents lots de tubercules, inoculés (agressivité faible, moyenne et forte) ou non (témoin).

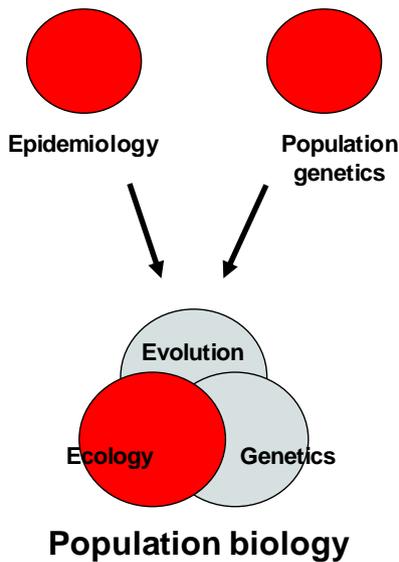
La survie des tubercules inoculés par *P. infestans* semble donc indépendante du niveau d'agressivité des souches. Mais la transmission d'une saison à la suivante requiert trois événements successifs (Fig. 8) : tout d'abord la transmission du feuillage aux tubercules, ensuite la survie au sein des tubercules pendant l'hiver, et enfin, l'émission de repousses malades au printemps suivant. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés uniquement à la seconde étape, donc l'absence de trade-off entre agressivité et survie ne signifie pas nécessairement qu'il n'y a pas de trade-off entre agressivité et transmission à la saison suivante.



**Figure 8 :** La transmission de *Phytophthora infestans* d'une saison à la suivante requiert trois étapes successives et cette étude s'est focalisée sur la seconde étape.

Des travaux plus récents, issus d'expérimentations que nous avons menées afin de prendre en compte les trois étapes successives susmentionnées, montrent que des infections par des isolats fortement agressifs conduisent à des tubercules plus petits, plus infectés et qui survivent moins bien (par rapport à des isolats moins agressifs). Il y a donc bien un trade-off entre l'agressivité foliaire pendant l'épidémie et la transmission asexuée d'une saison à la suivante ([P27]), ce qui explique le niveau d'agressivité plutôt stable des populations de *P. infestans*. Lors de sa thèse, Nicolas Mariette a d'ailleurs montré, en compilant des données de génotypage et de phénotypage de presque 1300 isolats collectés sur une période de huit années, que le pouvoir invasif des lignées clonales de *P. infestans* n'était pas lié à une agressivité plus forte. Au contraire, les clones qui deviennent dominants sont souvent moins agressifs que d'autres présents au même moment dans la population ([P29]). C'est bien la fitness globale qu'il faut considérer : c'est-à-dire la capacité à se reproduire mais aussi la capacité à survivre.

## *Erysiphe necator*, l'ascomycète responsable de l'oïdium de la vigne



La biologie des populations est un champ interdisciplinaire qui intègre l'épidémiologie et la génétique des populations, en se basant sur des concepts d'évolution, d'écologie et de génétique (Milgroom 2001).

Lors de mon premier post-doctorat, j'ai continué à utiliser la combinaison entre épidémiologie et génétique des populations pour aborder cette fois-ci plutôt des questions d'écologie chez *Erysiphe necator*, le champignon responsable de l'oïdium de la vigne.

Mes travaux de recherche sur ce pathosystème m'ont amené à manipuler les concepts de **coexistence d'espèces cryptiques**, de **niche écologique** et de **stratégies d'exploitation de la ressource**.

Ils illustrent également l'importance d'acquérir des connaissances sur la biologie et l'écologie des agents pathogènes afin de définir les meilleures stratégies de protection des cultures.

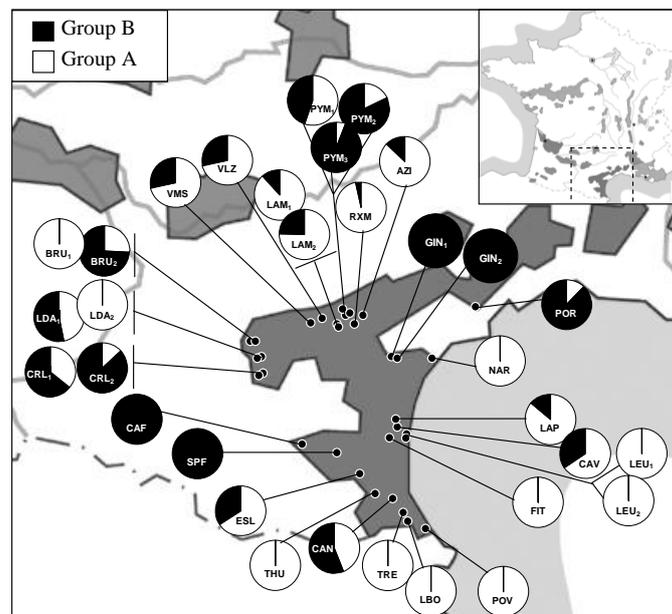
Les deux principales maladies de la vigne sont le mildiou, causé par l'oomycète *Plasmopara viticola* et l'oïdium causé par *Erysiphe necator*. L'oïdium est une maladie fongique présente dans l'ensemble des régions où la vigne est cultivée et ce champignon se développe sur tous les organes de la plante : feuilles, tiges et grappes (Fig. 9). Les populations d'*E. necator* sont composées de deux groupes génétiquement différenciés, A et B (Délye et al 1997, Evans et al 1997, Miazzi et al 2003, Nuñez et al 2006). Il a tout d'abord été postulé que ces deux groupes correspondent aux deux modes de conservation hivernale : i) la conservation sous forme de mycélium dans les bourgeons dormants, infectés en début de saison et donnant lieu au printemps suivant à un symptôme appelé 'drapeau' (jeune pousse recouverte d'un mycélium dense) et ii) la conservation *via* la reproduction sexuée aboutissant à la formation de cléistothèces en fin de saison, qui libéreront des ascospores au printemps suivant. Mais certaines études montrent que les symptômes drapeaux peuvent être causés par les deux génotypes d'*E. necator* (Cortesi et al 2005, Péros et al 2005, Nuñez et al 2006).



**Figure 9 :** Symptômes causés par *Erysiphe necator* sur les différents organes de la plante.  
**A :** Symptôme de type ‘drapeau’ observé en début de saison. **B :** Oïdium sur grappe observé en fin de saison.

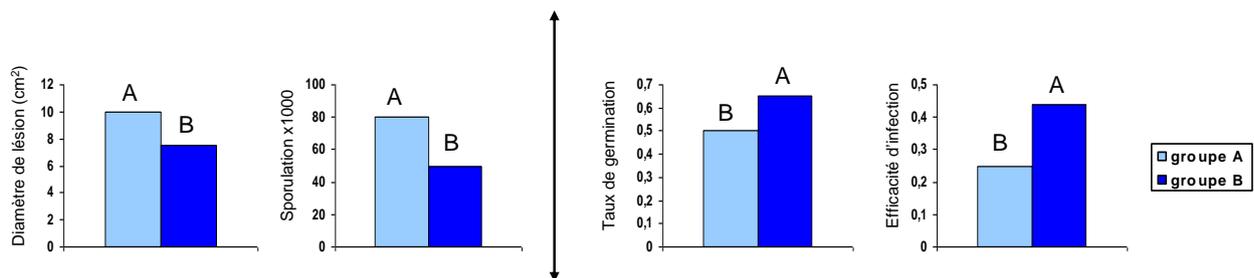
Afin d’explorer la question de la coexistence des deux groupes génétiques d’*E. necator*, mes objectifs étaient i) de décrire la distribution géographique des deux groupes à une échelle spatiale large, ii) d’explorer leur dynamique respective au cours d’une épidémie, iii) de suivre l’évolution et de comparer l’agressivité des groupes A et B, et enfin iv) de tester l’hypothèse d’une relation entre la composition génétique des populations et le niveau de maladie sur feuilles et sur grappes.

Nous avons réalisé un échantillonnage en tout début de saison sur des symptômes de type ‘drapeaux’ dans 32 parcelles de Carignan, campagne d’échantillonnage très agréable avec parfois des vues sur des paysages magnifiques. Les isolats (environ 700) ont été génotypés *via* l’amplification du gène de la  $\beta$ -tubuline qui présente un SNP entre les deux génotypes. Ce jeu de données a permis de confirmer que la survie hivernale dans les bourgeons (aboutissant à ce type de symptôme au printemps suivant) n’était pas exclusivement associée au génotype A et que les groupes d’*E. necator* sont distribués aléatoirement à cette échelle spatiale (Fig. 10, [P8]).



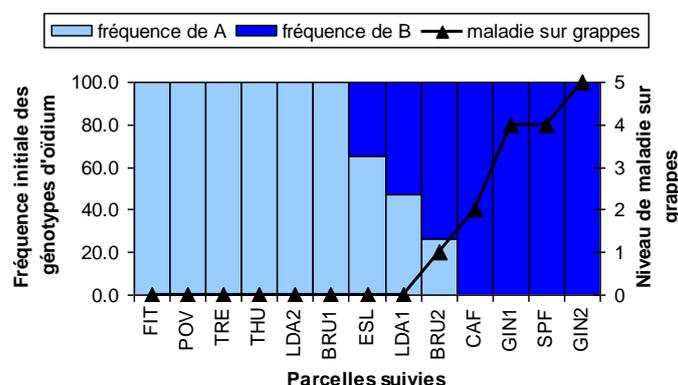
**Figure 10 :** Répartition spatiale des 32 parcelles échantillonnées en début de saison, et fréquences des isolats d’*E. necator* appartenant aux groupes génétiques A (en blanc) et B (en noir).

Cinq prélèvements supplémentaires ont été réalisés au cours de l'épidémie dans deux parcelles présentant les deux génotypes en début d'épidémie (moins de 50% de génotype B lors de l'échantillonnage précoce), et les isolats collectés (environ 50 isolats par date et par parcelle) ont été caractérisés génotypiquement, pour l'appartenance à l'un ou à l'autre des deux groupes génétiques, et phénotypiquement, *via* la mesure du taux de germination, de l'efficacité d'infection, de la période de latence, de la taille des lésions et de la production de spores. Le suivi de l'évolution de la composition des populations au cours de l'épidémie montre que la fréquence des génotypes B augmente rapidement jusqu'à obtenir des populations exclusivement constituées du génotype B. L'agressivité est stable entre le début et la fin de la phase épidémique pour l'ensemble des composantes mesurées et pour chacun des groupes. Mais la comparaison de l'agressivité entre les deux groupes génétiques, montre que le groupe génétique A est plus agressif que le groupe B pour la taille de lésion et la sporulation, alors que c'est l'inverse pour le taux de germination et l'efficacité d'infection (Fig. 11, [P6]).



**Figure 11** : Comparaison de l'agressivité (taille de lésion, sporulation, taux de germination et efficacité d'infection) entre les deux groupes génétiques d'*E. necator* (A en bleu clair et B en bleu foncé).

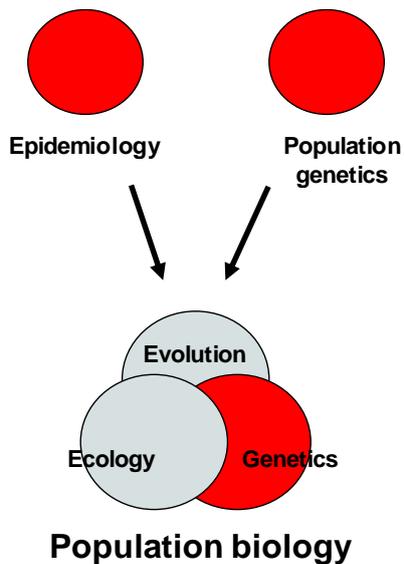
Dans 13 des 32 parcelles échantillonnées en tout début de saison, un prélèvement d'isolats ainsi qu'une notation du niveau de maladie sur grappe (échelle de 1 à 5 combinant intensité et sévérité de maladie) ont été réalisés juste avant la récolte (mi-septembre). Ces prélèvements confirment que les populations d'*E. necator* sont constituées à 100% du génotype B en fin de saison, quelle que soit la fréquence initiale. Et les notations de maladie ont permis de mettre en évidence une forte association entre fréquence génotypique initiale et niveau de maladie sur grappe à la récolte : les épidémies dommageables à la vendange sont associées à des infections initiales par le génotype B, alors que dans les parcelles présentant une majorité de A, les épidémies ont été sans impact sur la récolte (Fig. 12, [P8]).



**Figure 12** : Relation entre le niveau de maladie sur grappes juste avant la récolte et la fréquence des génotypes d'*E. necator* en début d'épidémie.

L'absence de croisement entre les deux groupes génétiques au vignoble, qui est un prérequis à l'existence et au maintien de ces deux groupes distincts, s'expliquerait par un isolement temporel et non par un isolement spatial. Effectivement, la formation de cléistothèces par reproduction sexuée a lieu en fin d'épidémie, alors que les populations pathogènes sont exclusivement constituées de souches du groupe génétique B. Le génotype A n'est capable que d'un seul mode de conservation, sous la forme asexuée dans les bourgeons, alors que le génotype B est capable des deux modes de conservation hivernale. Se posent alors les questions de savoir pourquoi les souches du groupe A disparaissent en cours de saison et du maintien à long terme du groupe A dans les populations. La comparaison de l'agressivité montre que les populations *E. necator* sont constituées de deux groupes génétiques sympatriques qui présentent deux stratégies différentes d'exploitation de la même ressource. Le groupe A maximise le nombre de descendants (*via* la forte sporulation) et investit peu dans la survie de chaque descendant (*via* la faible efficacité d'infection), alors que le groupe B limite le nombre de descendants et optimise leur maintien dans la population. Un parallèle peut donc être réalisé avec les stratégies écologiques de développement des populations : le génotype A se comporterait plutôt comme une espèce à stratégie r, alors que le génotype B se comporterait plutôt comme une espèce à stratégie K (MacArthur & Wilson 1967, Pianka 1970, Lodge 1993). La forte relation entre fréquence génotypique initiale et niveau de maladie sur grappe à la récolte a ouvert des perspectives susceptibles d'avoir d'importantes retombées finalisées, et j'ai d'ailleurs participé au développement d'une qPCR permettant de rapidement quantifier la fréquence des deux génotypes en début de saison ([P14]).

## PVY, le virus Y de la pomme de terre



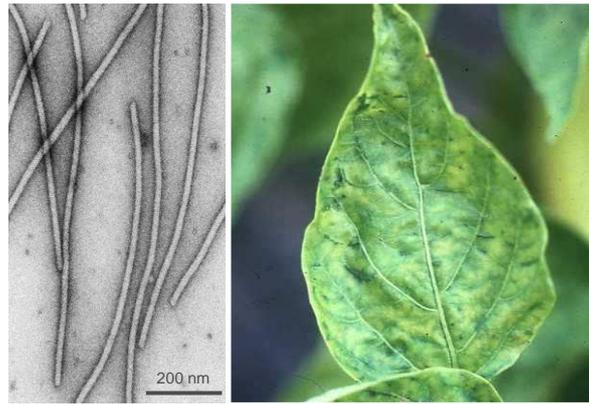
La biologie des populations est un champ interdisciplinaire qui intègre l'épidémiologie et la génétique des populations, en se basant sur des concepts d'évolution, d'écologie et de génétique (Milgroom 2001).

Et lors de mon deuxième post-doctorat, je me suis intéressé à la génétique de l'interaction entre des populations virales (PVY) et leur plante hôte (le piment).

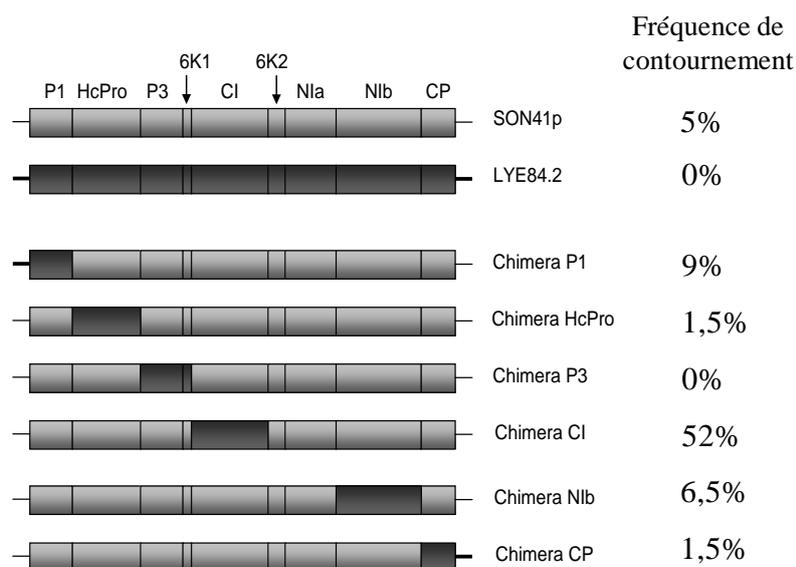
Mes travaux de recherche sur ce pathosystème m'ont amené à manipuler des concepts d'**évolution expérimentale** et de **génomique de l'adaptation**. J'ai également exploré les **coûts de fitness associés à l'adaptation virale aux résistances totales et partielles**, ainsi que les mécanismes de **compensation des coûts**. Enfin j'ai suivi la dynamique de variants viraux virulents et avirulents en **compétition** et ai estimé la **taille efficace** afin de quantifier l'intensité de la dérive génétique lors de l'infection en systémie de la plante.

L'interaction piment – *Potato virus Y* [PVY] (Fig. 13) constitue un système d'étude tout à fait intéressant pour rechercher des critères de durabilité (et de non durabilité), entre autre parce que les résistances disponibles présentent des durabilités contrastées. Afin d'analyser l'impact de différents systèmes génétiques de résistance chez une plante hôte sur des populations virales, nous avons retenu trois types de résistance : i) deux résistances totales récessives, conférées au piment par les allèles *pvr2<sup>3</sup>* et *pvr2<sup>2</sup>*, la première présentant une durabilité très faible (résistance présente dans des variétés locales et isolats virulents très fréquemment rencontrés) et la seconde une durabilité très forte (utilisée depuis plus de 50 ans et aucun isolat adapté n'a été observé dans la nature) ; ii) une résistance totale dominante qui est conférée au piment par le gène majeur *Pvr4* qui présente une durabilité très forte (exploitée depuis environ 20 ans sans contournement) ; et iii) une résistance partielle qui est conférée au piment par trois QTLs de résistance agissant sur l'accumulation virale et dont la durabilité n'a jamais été étudiée. Mon objectif était de mesurer le rôle respectif des facteurs intervenant lors de l'adaptation (**mutation**, **recombinaison**, **sélection** des variants viraux, et **dérive génétique**) qui sont potentiellement liés à la durabilité des résistances des plantes aux maladies.

**Figure 13 :** Particules de *Potato virus Y* [PVY] vues en microscopie électronique (à gauche) et symptômes de mosaïques causés par ce virus sur feuilles de piment (à droite).



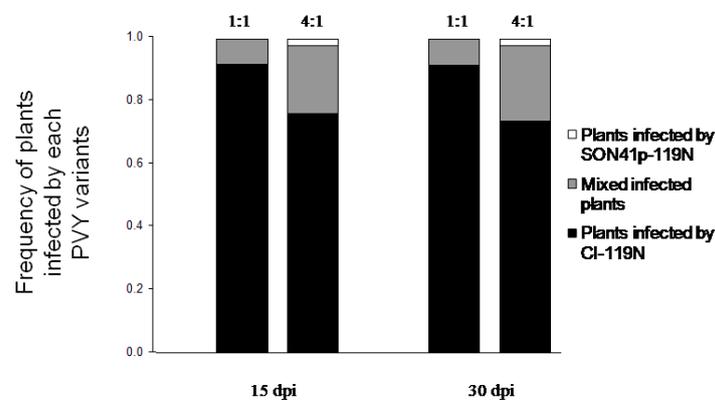
Le gène du piment *pvr2* code pour le facteur eucaryote d'initiation de la traduction eIF4E qui a été bien caractérisé et pour lequel le facteur de virulence se situe au niveau du gène viral codant pour la protéine VPg, protéine coiffant les ARNs viraux (Charron et al 2008). Et c'est l'interaction physique entre eIF4E et VPg qui permet la multiplication virale. Contrairement aux autres résistances qualitatives classiques ([Encadré 1](#)), c'est ici l'absence d'interaction qui aboutit à la résistance. Des études ont montré que le fond génétique du piment dans lequel est introduit l'allèle de résistance *pvr2*<sup>3</sup> influence fortement la durabilité de cette résistance (Palloix et al 2009, [\[P20\]](#)). En écho à ce résultat majeur, j'ai mené des travaux afin de déterminer si le fond génétique du PVY (l'intégralité du génome à l'exception du gène codant pour la VPg) a un effet sur la capacité de contournement de l'allèle de résistance *pvr2*<sup>3</sup>. Pour ce faire, des virus chimères, correspondant au cDNA de la souche SON41p (avirulente) dans lequel un gène est remplacé par le gène homologue de la souche LYE84.2 (également avirulente), ont été construits. Ils ont été inoculés à 200 plantes d'un génotype de piment possédant l'allèle *pvr2*<sup>3</sup> (un haploïde doublé). Ceci a permis de mettre en évidence une importante variabilité dans les capacités de contournement du virus ([Fig. 14, \[P15\]](#)), ce qui indique que le fond génétique du virus influence les capacités de contournement des résistances. Ce résultat implique que la recombinaison virale peut jouer un rôle majeur dans le contournement des résistances des plantes.



**Figure 14 :** Virus chimères inoculés au génotype de piment résistant et fréquences de contournement observées.

La chimère CI, qui présente une meilleure capacité de contournement de *pvr2<sup>3</sup>* que la souche parentale SON41p, a été utilisée afin de comprendre comment le fond génétique modifie les capacités de contournement. Pour ce faire quatre inocula, c'est-à-dire deux correspondant à la chimère CI et deux correspondant à SON41p, ont été inoculés sur des génotypes de piment sensible et résistante. Comme précédemment, il y a une importante différence entre la chimère CI et SON41p en terme de fréquence de contournement. Le séquençage du gène de la VPg des populations virales ayant contourné la résistance a permis d'identifier huit substitutions non synonymes dans la VPg qui permettent indépendamment le contournement : quatre précédemment identifiés (Ayme et al 2006) et quatre nouvelles mutations de virulence [P15]. De plus, quinze échantillons, correspondant aux inocula et aux populations virales prélevées sur 1 piment sensible et 1 ou 2 piment(s) résistant(s) par inoculum, ont été pyroséquencés au niveau de la VPg. Environ 2000 séquences de 250 pb par échantillon ont été livrées et l'analyse des SNPs a permis de comparer le taux de mutation dans les populations virales. Aucun lien entre le taux de mutation et la fréquence de contournement de la résistance n'a été mis en évidence. Cette analyse a également permis de mesurer la fréquence des mutants virulents dans les inocula. Dans la moitié des cas (11/21), ces mutants n'ont pas été détectés dans les inocula et aucune corrélation n'a été observée entre la fréquence de contournement due à ces différents mutants et leur fréquence dans les inocula. Ceci constitue un résultat majeur : le fait que les variants virulents soient capables d'apparaître au sein de la plante résistante est un élément nouveau à prendre en compte dans les modèles d'évolution des populations virales et donc de durabilité des résistances.

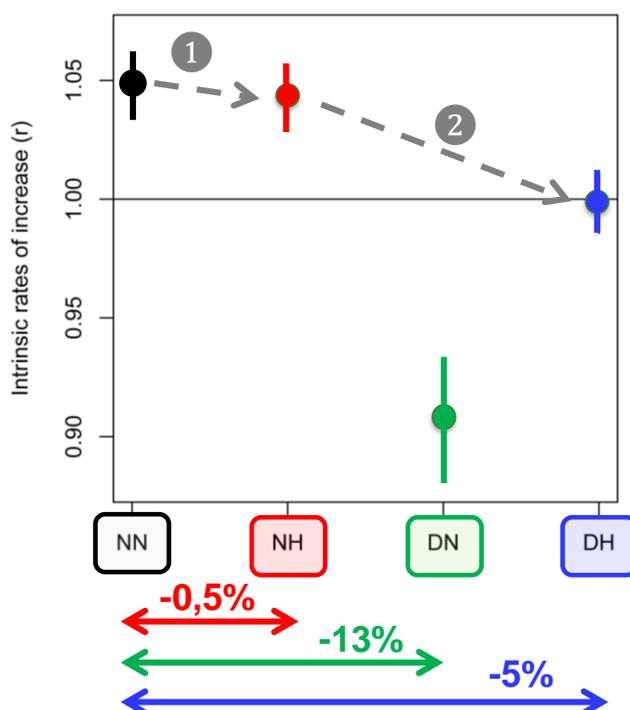
L'ensemble de ces résultats suggère qu'une différence de taux de mutation n'explique pas les différences de capacité d'adaptation entre la chimère CI et SON41p et que d'autres forces évolutives doivent être invoquées pour expliquer cette différence. La plus vraisemblable est que les mutants adaptés sont sélectionnés plus efficacement par la plante résistante au sein de la population virale CI qu'au sein de la population virale SON41p. Pour tester cette hypothèse, nous avons réalisé des compétitions dans la plante résistante entre des variants virulents issues ou non de la chimère CI, afin de mesurer la vitesse relative de sélection en condition de co-infection. Les résultats montrent que le variant issu de la chimère CI a une compétitivité beaucoup plus importante que celui issu de la souche parentale, quelque soit le ratio initial (1:1 ou 4:1 avec la chimère CI en plus faible proportion), et donc qu'il y a une différence de vitesse de sélection pour ces deux variants viraux (Fig. 15, [P15]).



**Figure 15** : Fréquence des plantes infectées par chacun des deux virus virulents (SON41p-119N et CI-119N) 15 et 30 jours après inoculation.

Il est donc clair que le fond génétique du virus influence sa capacité de contournement d'une résistance majeure, et ce en intervenant sur la sélection, plutôt que sur la mutation. Et il semble que la région codant la protéine CI soit un déterminant de l'évolvabilité du virus, c'est-à-dire que ce cistron est impliqué dans la capacité du virus à évoluer. D'autre part, le fait que les mutations de virulence ne soient pas systématiquement retrouvées dans les inocula nous indique que les mutations dans la VPg qui sont sélectionnées par les plantes résistantes apparaissent très certainement dans ces mêmes plantes. Et la capacité de multiplication (même faible) des souches avirulentes dans la plante résistante peut constituer un important critère de non-durabilité.

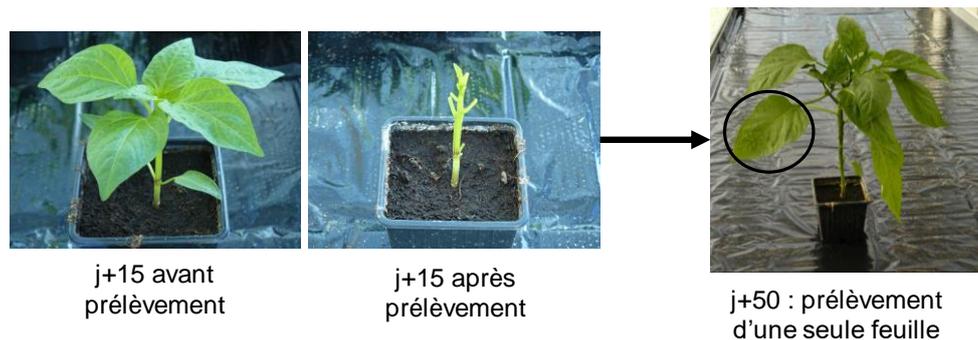
Contrairement à l'allèle *pvr2*<sup>3</sup>, l'allèle *pvr2*<sup>2</sup> confère au piment une résistance extrêmement durable. Cette forte durabilité a été attribuée au fait que le passage de l'avirulence à la virulence nécessite deux mutations, en position 119 et 121 de la VPg (Ayme et al 2007). Nous avons donc utilisé dans cette partie quatre variants de PVY qui diffèrent uniquement d'une ou deux substitutions qui sont impliquées dans la virulence face à *pvr2*<sup>2</sup> (NN, NH, DN et DH, ce dernier étant le variant virulent) afin d'étudier et de modéliser la dynamique intra-hôte de ces quatre variants en compétition dans une plante sensible. Les quatre variants ont été inoculés en proportions identiques à 40 plantes de la variété sensible de piment Yolo Wonder et l'ensemble des feuilles de huit plantes indépendantes a été prélevé à cinq dates successives (6, 10, 15, 24 et 35 jours post-inoculation). L'analyse des données de pyroséquençage a permis de suivre l'évolution de la fréquence de chacun des variants au cours du temps : les variants NN et NH sont sélectionnés alors que les variants DN et DH sont fortement contre-sélectionnés. Ceci nous a permis de montrer qu'il y a des différences significatives pour la fitness des variants et de mesurer l'effet des mutations individuelles sur la fitness du virus. Les résultats montrent que la mutation en position 119 est de loin la plus coûteuse pour le virus (Fig. 16, [P16]). Ils ont permis aussi d'identifier le chemin mutationnel le plus probable pour l'adaptation à la résistance conférée par *pvr2*<sup>2</sup> (Fig. 16, [P16]).



**Figure 16 :** Fitness relative des quatre variants viraux (NN, NH, DN et DH). Les coûts de fitness associés à chaque mutation individuelle sont indiqués sous le graphique et les flèches en pointillées indiquent le chemin mutationnel le plus probable pour l'acquisition de la virulence face à l'allèle de résistance *pvr2*<sup>2</sup>.

Il y a donc plusieurs critères qui peuvent expliquer la forte durabilité de cette résistance : tout d'abord le nombre de mutations, mais également le fait qu'un des deux chemins mutationnels est très peu probable, et l'existence d'un fort coût de virulence, puisque le variant virulent est fortement contre-sélectionné dans la plante sensible.

Lors de cette étude, nous avons également souhaité estimer la taille efficace de la population virale au court de la colonisation de l'hôte, c'est-à-dire le nombre de particules virales initiant l'infection en systémie d'une feuille. Pour ce faire, les huit plantes dont l'ensemble des feuilles a été prélevé à 15 jours post-inoculation ont été maintenues en serre pendant 35 jours supplémentaires et une feuille néoformée a été prélevée au hasard pour chaque plante (Fig. 17).



**Figure 17** : Trente-cinq jours après avoir déterminé la fréquence des quatre variants viraux sur l'ensemble des feuilles de la plante à 15 jours après inoculation, une feuille nouvellement formée (choisie au hasard) a été prélevée afin d'estimer la taille efficace de la population virale au court de la colonisation de l'hôte.

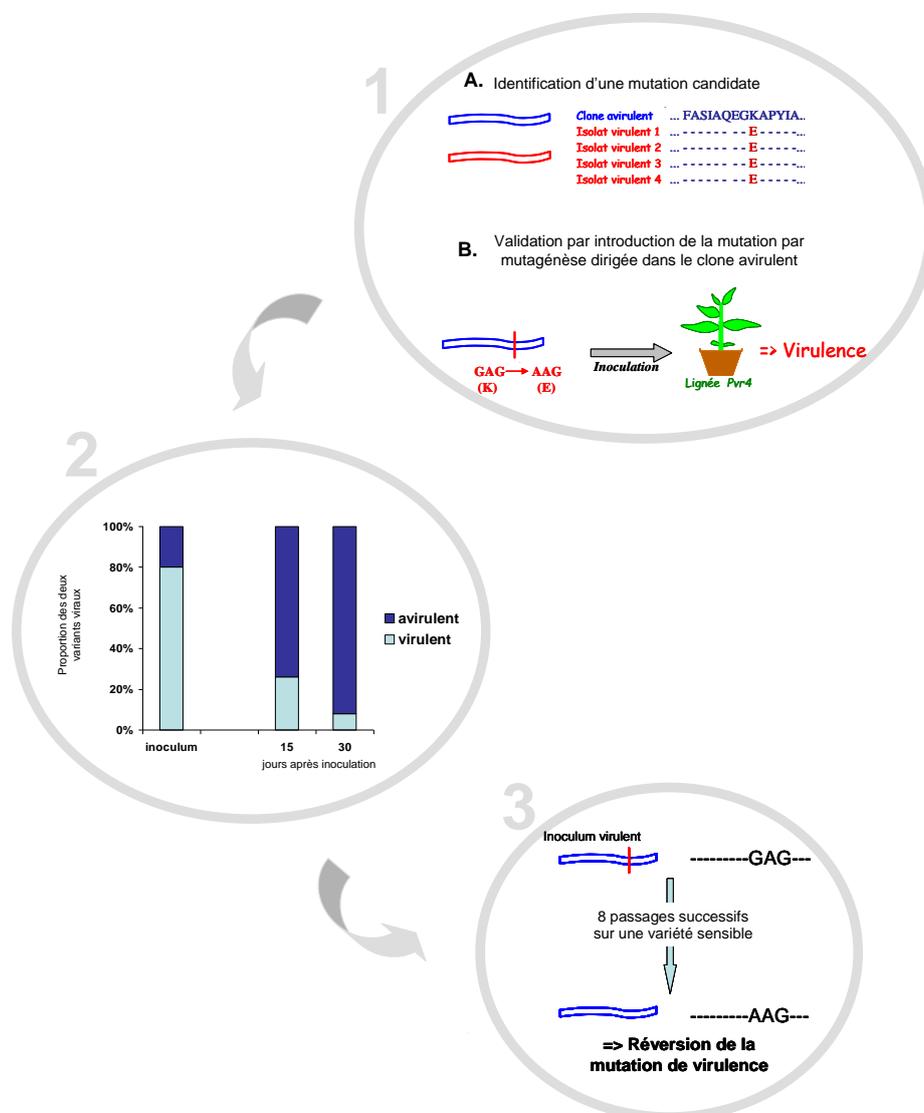
La comparaison des variances génétiques entre les populations initiales (j+15) et finales (j+50) a été réalisée en utilisant la méthode décrite par Monsson et al (2008). Pour un organisme haploïde comme un virus, la taille efficace ( $N_e$ ) est estimée par l'équation :

$$N_e = (1 - F_{ST}^i) / (F_{ST}^f - F_{ST}^i),$$

avec  $F_{ST}^i$  et  $F_{ST}^f$  correspondant aux  $F_{ST}$  des populations initiales (j+15) et finales (j+50), respectivement. Nos résultats montrent que seulement une à quatre entités virales est(sont) à l'origine de la population dans la feuille prélevée, i.e. une taille efficace moyenne de 2,25 avec un intervalle de confiance à 95% allant de 1,3 à 3,38 ([P16]). Cette très faible taille efficace suggère une forte intensité de la dérive génétique, due à d'importants bottlenecks, lors de l'infection en systémie des feuilles. Cette estimation de la taille efficace est du même ordre de grandeur que des estimations réalisées sur d'autres virus à ARN, i.e. le *Tobacco mosaic virus* (Sacristan et al 2003) et le *Wheat streak mosaic virus* (French & Stenger 2005), mais beaucoup plus faible que l'estimation réalisée pour un virus à ADN, le *Cauliflower mosaic virus*, qui est cent fois plus importante (Monsson et al 2008).

L'étude de l'adaptation du PVY à la résistance majeure conférée au piment par le gène *Pvr4*, nous a permis d'identifier d'autres critères de durabilité. L'obtention de variants viraux virulents au laboratoire (en greffant une plante résistante sur une plante sensible infectée) a permis d'identifier la substitution nucléotidique conférant la virulence (Fig. 18.1, [P9]). Des inoculations séparées des variants virulents et avirulents n'ont pas mis en évidence de coût de virulence. En revanche, lorsque ces variants sont placés en compétition sur une variété sensible,

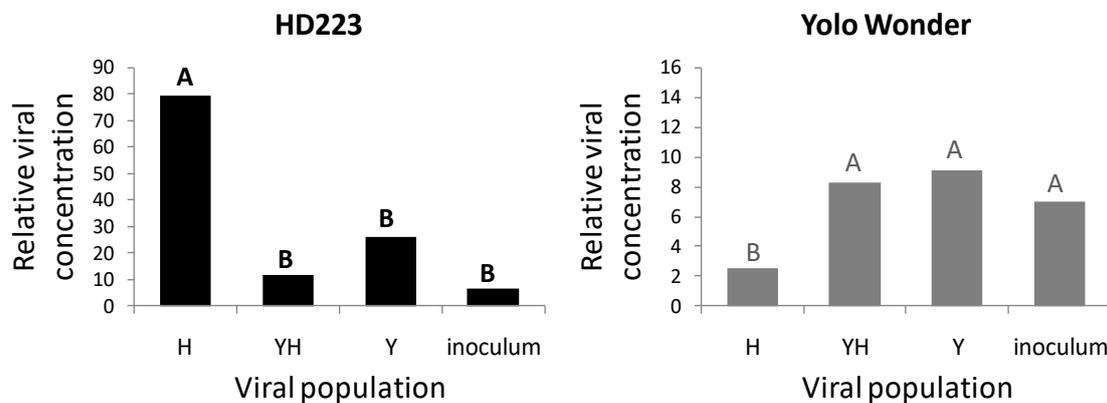
la fréquence du virulent diminue rapidement, même lorsqu'il est largement majoritaire au départ, ce qui indique un important coût de compétitivité associé à la virulence (Fig. 18.2, [P9]). L'étape suivante a été de déterminer si, à plus long terme, une compensation du coût de fitness associé à la mutation de virulence est possible. Afin de déterminer si des mutations compensatrices et/ou des événements de réversion sont impliqués dans les plantes sensibles, des lignées expérimentales indépendantes évoluant par passages successifs ont été réalisées. Le mutant virulent est éliminé par exclusion compétitive après quelques passages lorsqu'il est en compétition avec le virus avirulent. Mais lorsqu'il est seul, il y a, à chaque fois, réversion de la mutation de virulence (Fig. 18.3, [P9]) et aucune mutation compensatrice n'a été mise en évidence. La réversion semble donc être la seule solution pour le virus de regagner de la fitness. La faible compétitivité du variant virulent permet en partie d'expliquer la forte durabilité observée du gène de résistance *Pvr4*, mais il semble également que le mécanisme utilisable par le virus pour compenser les coûts, c'est-à-dire la réversion ou les mutations compensatrices (qui ne suppriment pas la virulence), peut également constituer un bon indicateur de durabilité.



**Figure 18** : La virulence du PVY face au gène de résistance *Pvr4* est due à une seule mutation dans la polymérase virale (1). Cette mutation entraîne un coût de compétitivité dans une variété sensible (2). Une expérimentation d'évolution expérimentale montre que la réversion de la mutation de virulence est le seul moyen pour le virus de regagner de la fitness (3).

Enfin, je me suis intéressé à une résistance partielle conférée au piment par trois QTLs de résistance, afin de déterminer si l'adaptation du PVY à une résistance quantitative est possible, et si cette adaptation s'accompagne d'un coût sur une plante sensible. Pour ce faire, nous avons mis en place un dispositif d'évolution expérimentale. Une souche de PVY a été confrontée par passages successifs soit au génotype partiellement résistant HD223 (H), soit à la variété sensible Yolo Wonder (Y), soit à une alternance de ces deux génotypes de piment (YH). Et après huit passages successifs, la fitness de 10 lignées indépendantes de chaque modalité a été évaluée sur chaque génotype de piment en mesurant l'accumulation virale.

Sur HD223, les résultats montrent que les passages successifs sur HD223 ont permis l'adaptation à cette résistance quantitative, alors que les passages sur la variété sensible ou sur l'alternance entre les deux génotypes n'entraînent pas de modification de la capacité de multiplication du virus au sein de ce génotype (Fig. 19, [P18]). Et sur la variété sensible, on voit que les lignées de la modalité H se multiplient moins bien que la population ancestrale, donc qu'il y a un coût de fitness associé à l'adaptation à la résistance quantitative de HD223 (Fig. 19, [P18]).

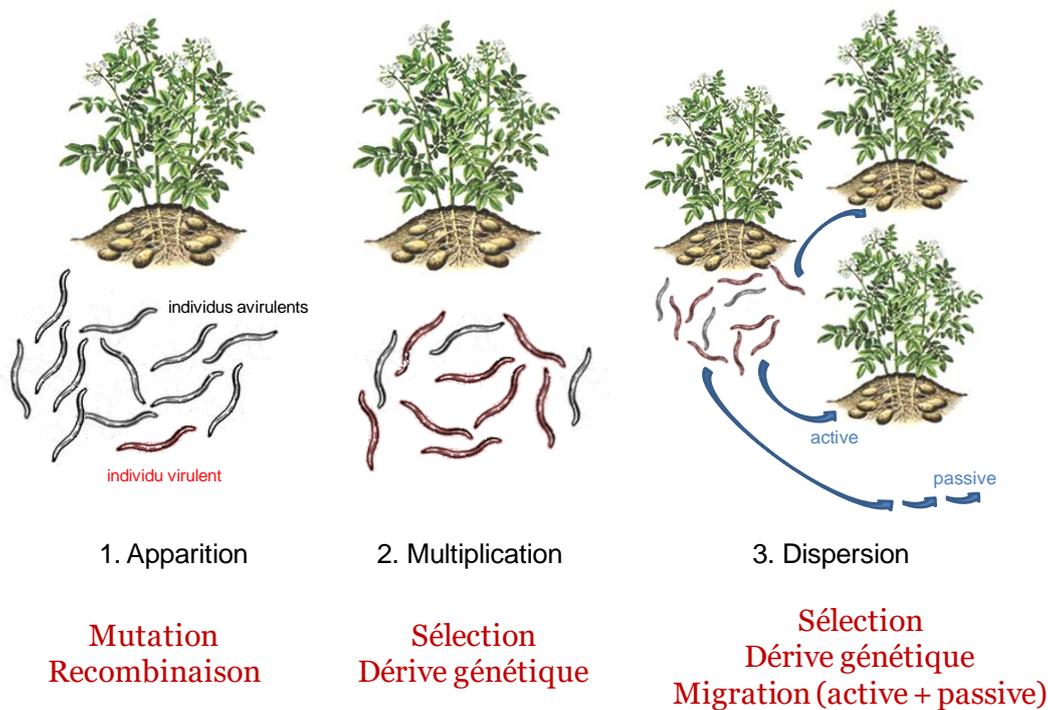


**Figure 19** : Accumulation virale dans HD223 (à gauche) et Yolo Wonder (à droite) des lignées issues des trois modalités (H pour évolution sur HD223, Y pour évolution sur Yolo Wonder et YH pour évolution sur l'alternance entre HD223 et Yolo Wonder) et de l'inoculum (souche ancestrale).

Ainsi, comme pour une résistance qualitative, l'adaptation à une résistance quantitative est possible et elle peut entraîner un coût de fitness sur une variété sensible. Ces résultats ne permettent pas de valider l'hypothèse d'une durabilité accrue des résistances quantitatives par rapport aux résistances qualitatives, et comme pour une résistance qualitative, il est nécessaire d'identifier des stratégies de déploiement pour conserver l'efficacité de ces résistances. A ce sujet, nous avons montré que l'alternance entre une variété partiellement résistante et une variété sensible permettait d'éviter l'adaptation des populations de virus.

## Projet scientifique actuel sur les nématodes à kyste

Au sein de l'équipe 'Résistance et Adaptation' de l'UMR IGEPP, et afin d'inclure la durabilité des résistances dans les schémas de sélection et de déploiement des résistances, j'évalue, en couplant des approches d'**évolution expérimentale** et de **génétique/génomique des populations**, la part relative des différentes forces évolutives qui sont impliquées lors du contournement des résistances par les nématodes à kyste (Fig. 20).



**Figure 20** : Forces évolutives impliquées lors du contournement des résistances des plantes par les nématodes à kyste : c'est-à-dire 1) lors de l'apparition d'individus virulents, 2) lors de leur multiplication dans la population et enfin 3) lors de leur dispersion à l'échelle du paysage (illustration adaptée de Gomez et al 2009). La migration active correspond à la dispersion des larves alors que la migration passive à celle des kystes.

L'estimation du taux de mutation chez les eucaryotes n'est pas triviale (Encadré 5) et cette force évolutive ne représente pas un levier sur lequel il est réellement possible d'intervenir. Par conséquent, et sachant que le taux de mutations chez les nématodes est faible, de l'ordre de  $2,7 \cdot 10^{-9}$  mutations par nucléotide et par génération chez *Caenorhabditis elegans* (Denver et al 2009), j'ai commencé par m'intéresser aux trois autres forces évolutives que sont la **sélection**, la **dérive génétique** et la **migration**.

L'objectif de la gestion durable des résistances étant de répondre à la fois au dilemme du sélectionneur (choisir les gènes ou les combinaisons de gènes de résistance potentiellement les plus durables) et au dilemme de l'agriculteur (proposer des stratégies optimales de déploiement des résistances et de combinaison avec d'autres méthodes de lutte), je m'intéresse maintenant également à des solutions de **biocontrôle** qui pourront à terme être complémentaires à l'utilisation des variétés résistantes.

### Encadré 5 : Estimation du taux de mutation

L'estimation du taux de mutation peut-être techniquement difficile, entre autre parce que la sélection, qui élimine rapidement les mutations délétères, peut en biaiser l'estimation (Drake et al 1998).

Avant l'arrivée des NGS, la méthode la plus courante consistait à estimer le taux de mutation de manière indirecte via des analyses de phylogénie comparative de pseudogènes (gènes qui ne sont plus fonctionnels et qui ne sont donc plus influencé par la sélection) entre des espèces proches (e.g. Kondrashov & Crow 1993). La difficulté est alors d'estimer correctement le nombre de générations depuis la divergence des espèces utilisées.

Il existe aujourd'hui deux principales méthodes pour estimer le taux de mutation chez les eucaryotes :

- La première approche, dite d'accumulation de mutations, consiste à maintenir des lignées 'inbred' sur plusieurs générations (en les soumettant à des bottlenecks afin que les mutations qui seraient purgées par la sélection soient maintenues par chance) et de compter les différences entre la première et la dernière génération. Elle a été utilisée chez *Saccharomyces cerevisiae* (Lang & Murray 2008, Lynch et al 2008), *Caenorhabditis elegans* (Denver et al 2004) et *Drosophila melanogaster* (Haag-Liautard et al 2007). Pour obtenir de telles lignées chez les nématodes à kyste, il faudrait réaliser des croisements entre un frère et une sœur à chaque génération, pendant x générations, avec des lignées indépendantes pour chaque population. Cette méthode nécessite donc de bien maîtriser les croisements au laboratoire et demande un investissement important pour (peut-être) maintenir des lignées 'inbred'.
- La seconde approche consiste à séquencer des parents et leurs descendants mais il faut une couverture de séquençage importante pour détecter les différences entre les parents et les descendants (e.g. Feng et al 2017). Cette méthode est privilégiée chez les organismes non modèles. Chez les nématodes à kyste, il est éventuellement possible de séquencer le père (après la fécondation) mais ni la mère, qui se transforme en kyste, ni les descendants de manière individuel car la quantité d'ADN extraite d'une seule larve est très faible et ne permet pas actuellement (mais les développements technologiques à venir devraient le permettre) de réaliser le séquençage complet de son génome.

Je mène ces recherches sur différentes espèces de nématodes à kyste des genres *Globodera* et *Heterodera* : *G. pallida*, *G. rostochiensis*, *G. tabacum*, *H. carotae* et *H. schachtii*. Toutes ces espèces sont diploïdes à reproduction sexuée obligatoire et ont un cycle biologique très similaire (Encadré 6). Ces espèces diffèrent par leur origine géographique, leur gamme d'hôtes et leur capacité de multiplication, ce qui en fait des modèles d'étude complémentaires. *G. pallida* et *G. rostochiensis* sont des espèces qui ont été introduites en Europe depuis l'Amérique du Sud (Pérou (Plantard et al 2008) et Bolivie (Evans et al 1975, [P22]) respectivement), elles ont une gamme d'hôte étroite (pomme de terre, tomate, aubergine) et ne réalisent, en Europe, qu'une génération par an (i.e. par saison culturale). *G. tabacum* est certainement aussi originaire d'Amérique du Sud (Grenier et al 2010), a une gamme d'hôte étroite (tabac, tomate, aubergine et piment), mais réalise plusieurs générations par an. *H.*

*carotae* est très certainement originaire d'Asie centrale, a une gamme d'hôte très étroite (carotte) et réalise plusieurs générations par an. Enfin *H. schachtii* est indigène en Europe, cette espèce a une gamme d'hôte très large qui comprend des espèces de différentes familles végétales (*Brassicaceae*, *Chenopodiaceae*, *Amaranthaceae*, *Polygonaceae*, etc.) dont la betterave sucrière, l'épinard ou le colza pour les principales espèces cultivées, et réalise plusieurs générations par an. Contrairement aux autres espèces, *G. pallida* et *G. rostochiensis* sont des organismes de quarantaine (surveillance du territoire, lutte obligatoire en cas de détection et à manipuler dans des structures confinées de type 2). Des génomes de référence sont disponibles pour *G. pallida* (Cotton et al 2014) et *G. rostochiensis* ([P31]). Le génome de *H. schachtii* est en cours de séquençage (communication personnelle S. Eves-van den Akker) et un nouvel assemblage sera bientôt disponible pour *G. pallida* (communication personnelle J. Jones et J. Helder).

### Encadré 6 : Cycle biologique des nématodes à kyste

Les kystes renferment plusieurs centaines d'œufs qui éclosent suite à la perception des exsudats racinaires de la plante hôte. Les larves migrent jusqu'à la racine et y pénètrent grâce à leur stylet, une véritable aiguille buccale. Le nématode modifie le fonctionnement de cellules végétales du cylindre central pour former une structure particulière, le syncytium, qui lui permet de se nourrir des nutriments circulant dans les vaisseaux vasculaires de la plante. Il y a ensuite différenciation en mâle ou femelle. Les mâles redeviennent libres et sortent de la racine, alors que les femelles grossissent jusqu'à faire éclater la racine (elles sont alors visibles à l'œil nu sous la forme de petits points blancs à l'extérieur de la racine). Les mâles fécondent les femelles et c'est le corps de la femelle qui va constituer le kyste qui se détache de la racine et qui peut survivre dans le sol une dizaine d'années.

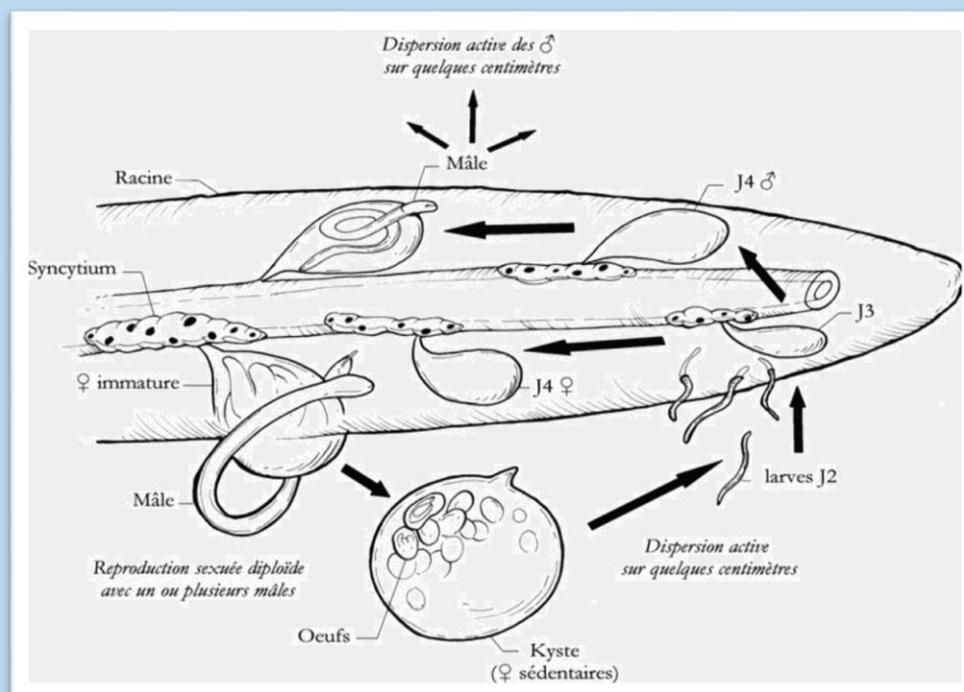
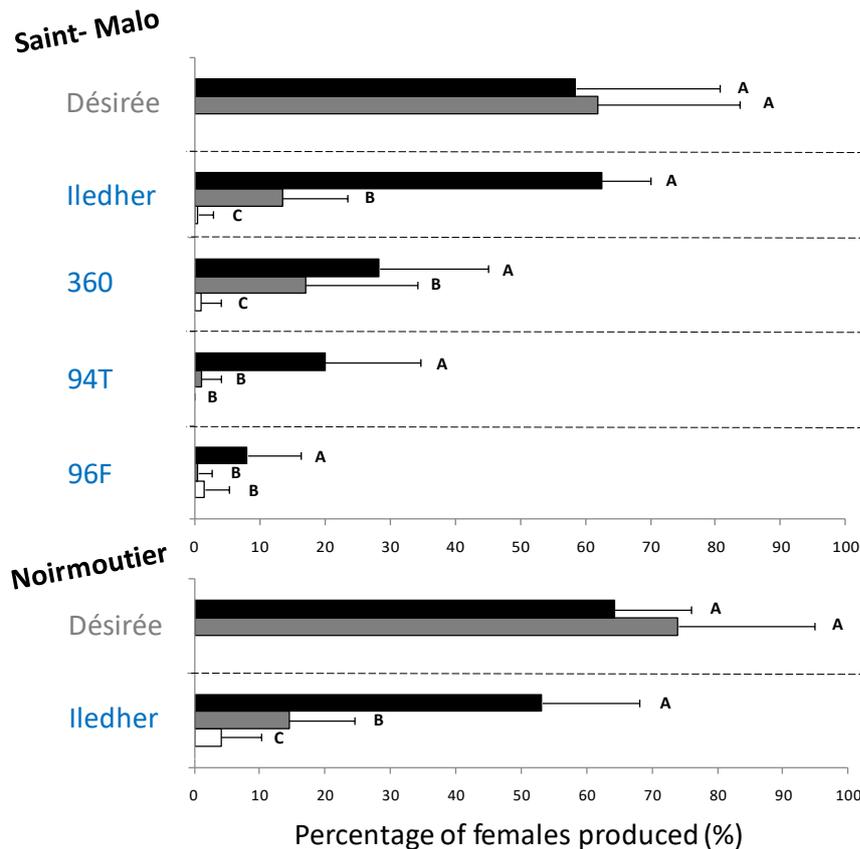


Figure 21 : Cycle de *Globodera pallida* - illustration réalisée par Pauline Casters-Picard

## **Sélection : modifications phénotypiques et génomiques associées à l'adaptation de *Globodera pallida* à la résistance de la pomme de terre**

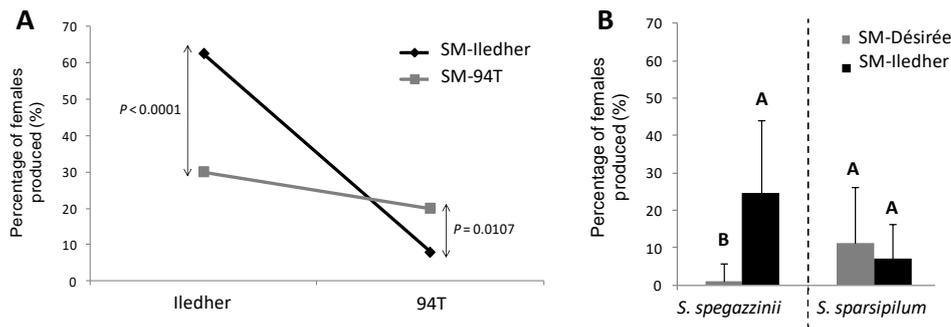
Le temps nécessaire pour mener des approches d'évolution expérimentale est très dépendant de la biologie de l'organisme étudié. Alors qu'un virus présente un taux de multiplication très rapide, le nématode à kyste de la pomme de terre, *Globodera pallida*, n'effectue qu'une génération par an. Mon projet de recherche a ainsi bénéficié de lignées de *G. pallida* que l'équipe (et en particulier Sylvain Fournet) a auparavant fait évoluer expérimentalement face à des génotypes résistants de pomme de terre. Deux populations indépendantes de *G. pallida*, originaires de St-Malo et de Noirmoutier, ont été confrontées pendant huit générations successives à quatre génotypes améliorés de pomme de terre issus de la source de résistance *Solanum vernei* (dont la variété Iledher qui est la première variété de consommation résistante à *G. pallida* inscrite au catalogue français). Les généticiens de la pomme de terre de l'INRA travaillent sur trois sources de résistance face à *G. pallida* : *S. vernei*, *S. sparsipilum* et *S. spegazzinii*, mais pour le moment toutes les variétés résistantes européennes sont issues de *S. vernei* et possèdent le QTL majeur de résistance *GpaV<sub>vrm</sub>* (Roupe van der Voort et al 2000, Bryan et al 2002, Caromel et al 2003) qui masculinise les populations de nématodes.

Des mesures du niveau de virulence (% de femelles produites) des populations ayant subi cinq et huit générations nous ont permis de regarder si la durabilité des résistances est variable entre ces génotypes de pomme de terre qui présentent le même QTL de résistance *GpaV<sub>vrm</sub>* dans des fonds génétiques différents. Nos résultats montrent qu'au départ la résistance est très efficace, mais qu'après cinq ou huit générations les populations sont capables de s'adapter aux quatre génotypes de pomme de terre. Et au bout de huit générations, le contournement de la résistance de la variété Iledher est complet, et ce pour les deux populations : les lignées ayant évoluées sur cette variété produisent autant de femelles que ce qui est observé sur la variété sensible Désirée. La comparaison entre les différents génotypes résistants montre que le fond génétique de la plante influence fortement la durabilité de la résistance conférée par *GpaV<sub>vrm</sub>* (Fig. 22, [P19]). L'impact du fond génétique de la plante sur la durabilité de gènes majeurs de résistance a également été mis en évidence chez un virus, le PVY (Palloix et al 2009, [P20]), un champignon, *Leptosphaeria maculans* (Brun et al 2010, Delourme et al 2014) et chez un nématode à galles, *Meloidogyne incognita* (Barbary et al 2014, 2016). La sélection de telles constructions génétiques, i.e. l'introgession de gènes majeurs dans des fonds génétiques partiellement résistants, semble donc être une voie prometteuse pour accroître la durabilité des résistances ([P37]).



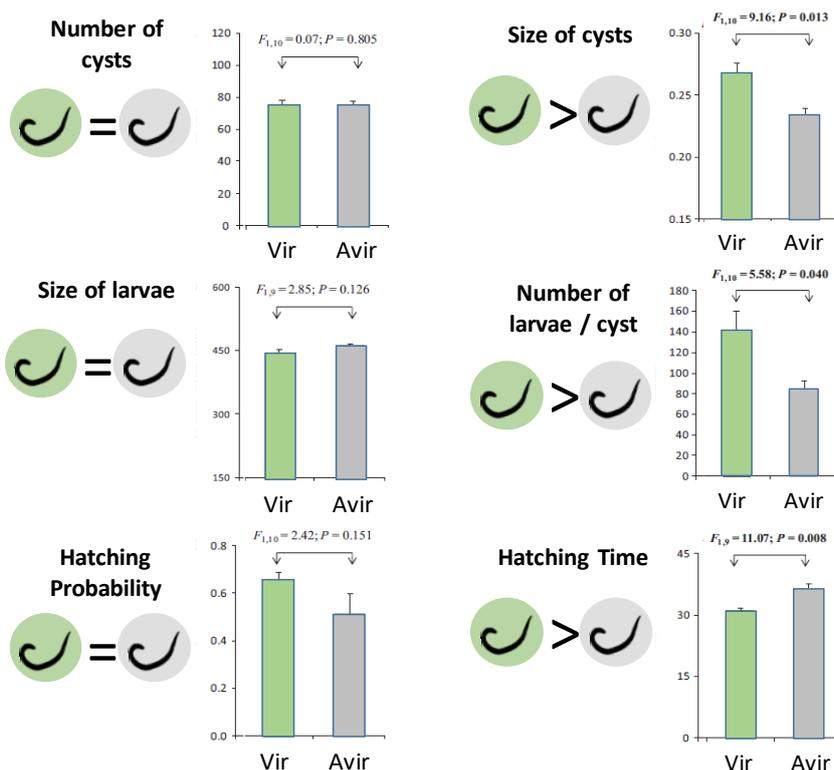
**Figure 22** : Pourcentage de femelles produites sur quatre génotypes de pomme de terre résistants (Iledher, 360, 94T et 96F) et un génotype sensible (Désirée) de lignées de *G. pallida*, issues de populations originaires de Saint-Malo (en haut) et de Noirmoutier (en bas), avant évolution (blanc) et après cinq (gris) et huit (noir) générations d'évolution expérimentale sur ces mêmes génotypes.

Nous avons également exploré dans cette étude les conséquences indirectes de l'adaptation à cette résistance en termes d'adaptation locale (au génotype hôte) et de virulence croisée. Les lignées adaptées à Iledher et 94T ont été testées de façon croisée sur chacun de ces deux génotypes : sur Iledher, la lignée qui a évolué sur ce génotype est plus performante que la lignée qui a évolué sur 94T, alors que c'est l'inverse sur 94T (Fig. 23A, [P19]). Ce patron d'adaptation différentielle aux génotypes de pomme de terre indique que le processus de sélection divergente a opéré au cours de l'évolution expérimentale réalisée à partir d'une même population, et qu'il y a un trade-off entre l'adaptation à un génotype de pomme de terre et l'adaptation à un autre. Et en ce qui concerne la virulence croisée entre des génotypes de pomme de terre issus de différentes sources de résistance (et en particulier avec des génotypes issus de *S. sparsipilum* et *S. spegazzinii* qui présentent aussi le QTL de résistance *GpaV* en position colinéaire (Roupe van der Voort et al 2000, Caromel et al 2003, 2005)), nous avons montré que l'adaptation à *GpaV<sub>vm</sub>* ne permet pas nécessairement l'adaptation aux QTLs de résistances colinéaires. Effectivement, la lignée adaptée à Iledher est directement (i.e. sans confrontation préalable) plus performante que la lignée non adaptée sur des génotypes issus de *S. spegazzinii*, alors que ce n'est pas le cas sur des génotypes issus de *S. sparsipilum* (Fig. 23B, [P19]) ce qui est cohérent avec la phylogénie des Solanacées puisque *S. spegazzinii* est plus proche de *S. vernei* que ne l'est *S. sparsipilum* (Spooner et al 2005). Ce résultat suggère que des alternances entre des génotypes résistants issus de *S. sparsipilum* et de *S. vernei* sont envisageables, mais qu'il va falloir éviter d'alterner des génotypes issus de *S. spegazzinii* et de *S. vernei*.



**Figure 23 :** Pourcentage de femelles produites par les lignées adaptées à Iledher (SM-Iledher) et 94T (SM-94T) sur ces deux génotypes (A) et par les lignées adaptée (SM-Iledher) et non adaptée (SM-Désirée) à la résistance de *S. vernei* sur des génotypes issus de *S. spegazzinii* et *S. sparsipilum* (B).

L'étape suivante évidente a été d'utiliser ces mêmes lignées pour rechercher d'éventuels coûts de fitness associé à l'adaptation à la résistance de la variété Iledher. La comparaison de différents traits de vie (nombre de kystes, nombre de larves par kyste, taille des kystes et des larves, capacité d'éclosion des kystes) entre lignées virulentes et avirulentes semble montrer un bénéfice de virulence : sur une variété sensible, les lignées virulentes produisent de plus gros kystes qui renferment plus de larves et qui éclosent plus rapidement (Fig. 24, [P30]). Ce résultat suggère que les individus virulents ont la capacité à envahir les populations même lorsque les résistances ne sont pas utilisées, à moins 1) que le coût ait été rapidement compensé dans notre dispositif d'évolution expérimentale, 2) qu'il existe un fort coût de compétitivité (hypothèse qui nécessite de disposer d'un outil moléculaire permettant de suivre les fréquences des allèles de virulence et d'avirulence dans les populations) et/ou 3) que la dérive génétique soit plus forte que la sélection dans les populations naturelles de *G. pallida*.



**Figure 24 :** Suite à une multiplication sur la variété sensible Désirée, il n'y a pas de différence significative entre les lignées virulente et avirulente pour le nombre de kystes, la taille des larves et la probabilité d'éclosion (à gauche), mais la lignée virulente produit de plus gros kystes qui renferment plus de larves et qui éclosent plus rapidement que la lignée avirulente (à droite).

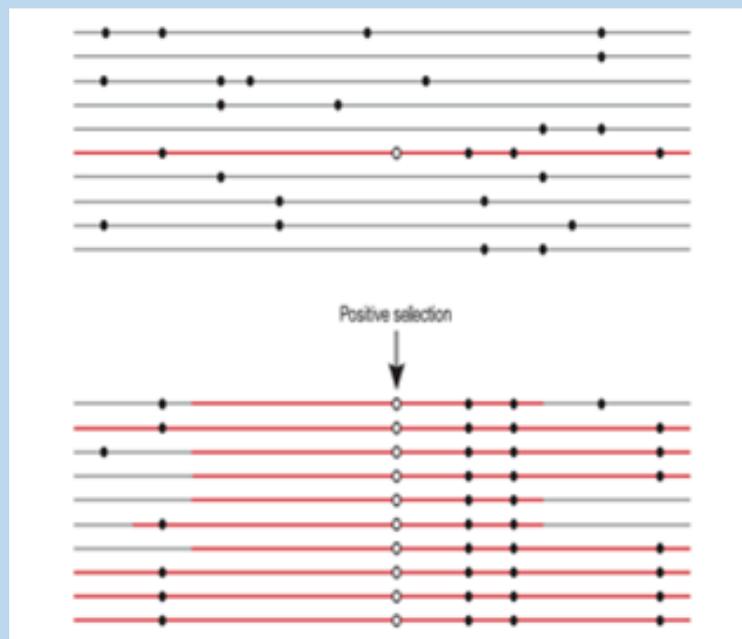
En ce qui concerne les modifications génomiques associées à l'adaptation de *G. pallida* à la résistance de la pomme de terre, nous avons mené dans le cadre de la thèse de Delphine Eoche-Bosy une approche de genome scan (**Encadré 7**) sur ces lignées afin d'identifier les bases génétiques de cette adaptation.

Nous avons utilisé deux couples de lignées virulentes et avirulentes issues de deux populations françaises distinctes de *Globodera pallida* (SMI/SMD pour la population de St-Malo qui a évolué sur Iledher et Désirée et NI/ND pour la population de Noirmoutier qui a évolué sur Iledher et Désirée). Trois densités de marqueurs ont été comparées : quelques microsatellites ( $\approx 50$ ), des SNPs issus d'un séquençage GBS - Genotyping-By-Sequencing (Elshire et al 2011) - d'un génome réduit ( $\approx 2000$ ) et des SNPs issus d'un séquençage complet de pools d'individus ( $\approx 1,6$  millions).

### Encadré 7 : Le principe du genome scan

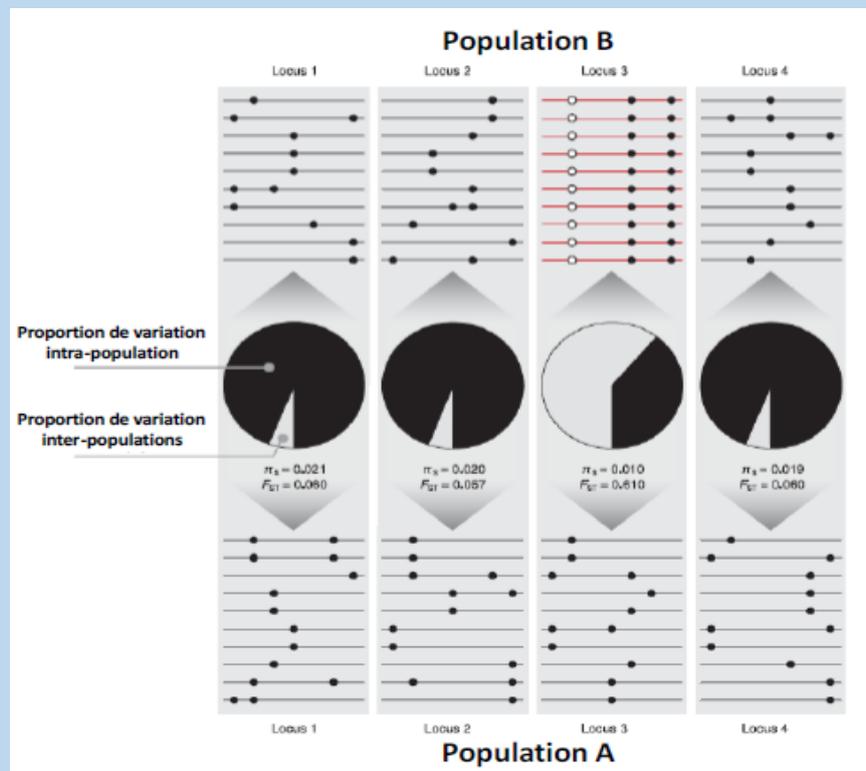
Le genome scan repose sur deux grands principes. D'une part, le génome est affecté dans son ensemble par trois forces évolutives que sont la mutation, la migration et la dérive génétique, alors que la sélection n'affecte qu'une partie des loci, qui présentent alors des patrons de variations différents du reste du génome. D'autre part, la sélection d'un locus avantageux affecte également les loci avoisinants par un effet d'autostop moléculaire (Maynard-Smith & Haigh 1974), ce qui crée un îlot de différenciation génétique autour du locus sélectionné, véritable signature de la sélection dans le génome. Cet effet entraîne aussi une baisse de la diversité dans ces régions génomiques (Fig. 25).

**Figure 25 :** Illustration de l'autostop moléculaire (d'après Storz 2005). Les lignes horizontales représentent des chromosomes homologues échantillonnés dans une population et les ronds noirs correspondent à des mutations neutres. Le rond blanc correspond à une mutation avantageuse qui apparaît puis se fixe rapidement dans la population sous l'effet de la sélection, entraînant avec elle une portion de l'haplotype ancestral, représenté en rouge. Les variants neutres initialement liés à la mutation avantageuse augmentent alors en fréquence.



### Encadré 7 : Le principe du genome scan (suite)

Afin d'identifier les régions génomiques présentant des traces de sélection, le principe consiste à génotyper des populations avec des marqueurs moléculaires répartis sur tout le génome et de calculer pour chaque marqueur des indices de différenciation génétique ( $F_{ST}$  ou indices proches) entre populations. La différenciation génétique étant plus forte dans les régions sous sélection (Fig. 26), l'étape finale est de confronter les  $F_{ST}$  à une enveloppe de neutralité simulée et ainsi identifier les régions génomiques proches des marqueurs présentant des  $F_{ST}$  outliers (i.e. sortant de l'enveloppe). Comme la diversité génétique est plus faible dans les régions génomiques sous sélection (Fig. 25 et Fig. 26), les indices de diversité génétique peuvent également constituer un second critère pour l'identification de ces régions.

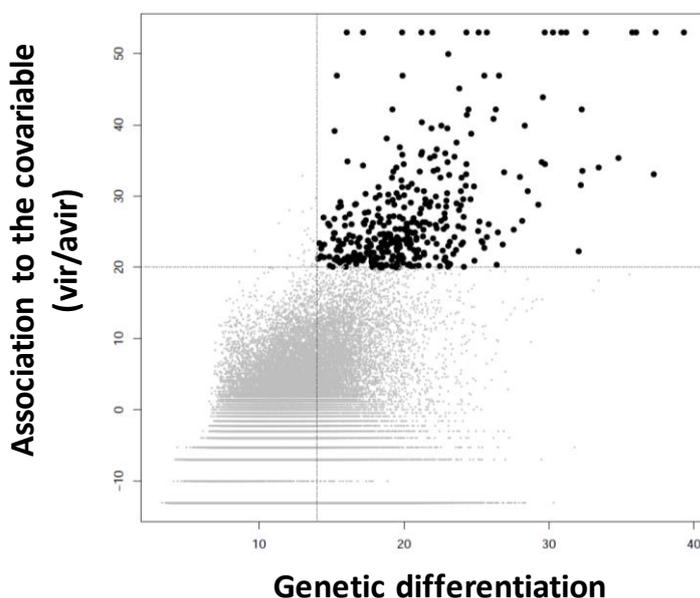


**Figure 26 :** Critères permettant d'identifier des traces de sélection dans un génome (d'après Storz 2005). Les marqueurs liés à la mutation sélectionnée (rond blanc) au niveau du locus 3 sont caractérisés par une augmentation de la différenciation génétique entre les deux populations ( $F_{ST}$ ) et une réduction de la diversité intra-population ( $\pi$ ) par rapport aux marqueurs non liés à cette mutation au niveau des loci 1, 2 et 4.

Le balayage génomique faible densité a été réalisé en utilisant 53 marqueurs microsatellites polymorphes (sur 202 marqueurs testés) et trois méthodes d'identification d'outliers : deux basées sur la différenciation génétique et qui utilisent des modèles différents pour simuler l'enveloppe de neutralité - FDIST (Vitalis 2012) et DETSEL (Beaumont & Nichols 1996, Excoffier & Lisher 2010) - et une basée sur la diversité génétique - lnRH (Kauer et al 2003, Schlötterer & Dieringer 2005). Ce genome scan a permis d'identifier sept régions génomiques intéressantes, dont deux outliers qui ont été détectés simultanément en utilisant les deux couples de lignées indépendants ([P34]). Les sept outliers indiquent des régions génomiques potentiellement sous sélection mais la dissociation entre l'effet de la sélection et celui de la dérive génétique n'est possible que pour les deux loci détectés dans les deux populations, un phénomène aléatoire ayant une probabilité très faible (voire nulle) d'aboutir deux fois au même résultat. Ce travail a surtout permis de valider la faisabilité d'une telle

approche sur notre matériel biologique, qui a subi un processus court de divergence (huit générations) en évolution expérimentale.

Le balayage génomique haute densité a été réalisé sur des données issues du séquençage complet de huit pools de 300 larves provenant de 300 kystes distincts, i.e. deux répétitions biologiques indépendants par lignée (SMI, SMD, NI et ND). Le PoolSeq (Futschik & Schlötterer 2010, Zhu et al 2012, Ferretti et al 2013, Gautier et al 2013, Schlötterer et al 2014) est une stratégie qui présente plusieurs avantages : elle permet de disposer de suffisamment d'ADN, car la quantité d'ADN que nous sommes capables d'extraire d'une larve ne permet pas de séquencer le génome complet avec une couverture satisfaisante, et elle permet également d'accéder aux fréquences alléliques de chaque SNP pour un coût financier réduit. Le séquençage des huit pools a été réalisé sur quatre pistes Illumina Hi-seq2500, aboutissant à une couverture de 300x par lignée (*G. pallida* ayant un génome de 100Mb). Les reads obtenus ont été mappés sur le génome de référence (constitué de 6 873 scaffolds, Cotton et al 2014) afin d'identifier les SNPs. Après filtrations sur la couverture et les comptages alléliques, 1,6 millions de SNPs, soit 1 SNP toutes les 61pb, ont été utilisés pour réaliser le genome scan en utilisant le programme BayPass (Gautier et al 2015). Cette approche a permis d'identifier 275 SNP outliers qui présentent une forte différenciation génétique et une bonne association à la covariable, qui est dans notre cas le statut virulent ou avirulent des lignées (Fig. 27, [P36]). Et parmi cette liste de 275 SNPs, 31 présentent également une baisse de diversité génétique chez les lignées virulentes. L'analyse des 31 régions génomiques candidates montre qu'elles sont enrichies en gènes codant des protéines sécrétées et que 12 outliers sont localisés directement dans des gènes ([P36]).

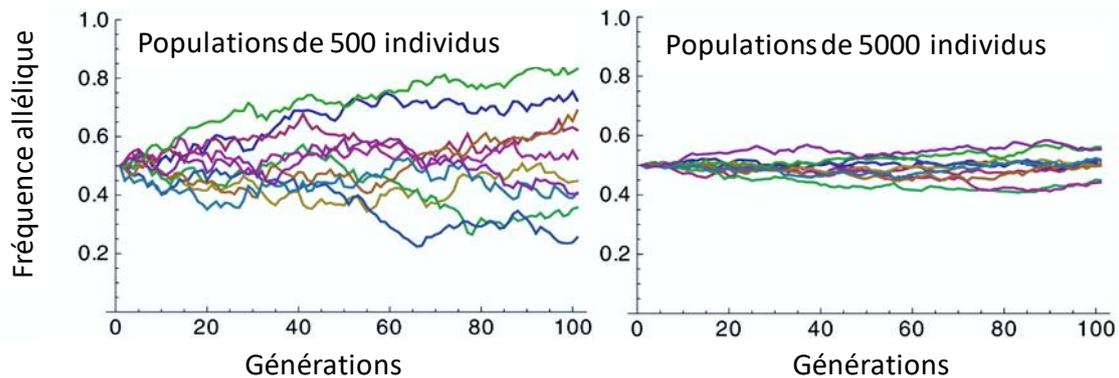


**Figure 27** : Sortie de BayPass permettant l'identification de 275 SNP outliers qui présentent simultanément une forte différenciation génétique et une bonne association à la covariable (statut virulent ou avirulent des lignées).

Enfin la comparaison entre séquençage complet et GBS semble indiquer que la proportion de faux positifs est plus importante sur des données issues de GBS. Nous testons actuellement une méthode de nettoyage des données GBS (GBStools - Cooke et al 2016) qui permet d'estimer et de retirer les allèles nuls (dropout).

## Dérive génétique : l'importance de la taille efficace chez les nématodes à kyste

La dérive génétique est la variation aléatoire des fréquences alléliques au cours des générations. Elle est dû à la part de hasard lors du choix des partenaires sexuels puis lors de la fusion des gamètes. Cette force évolutive touche toutes les populations à chaque génération et son intensité dépend fortement de la taille des populations. Ainsi, des variations stochastiques de fréquences alléliques peuvent mener à la fixation de certains allèles dans des populations de petite taille, alors que ce phénomène sera nettement atténué dans des populations de grande taille (Fig. 28).



**Figure 28** : Effet de la dérive génétique sur des populations de petite taille (à gauche) et de grande taille (à droite) – illustration adaptée de Masel 2011.

Cependant, l'intensité de la dérive génétique n'est pas directement corrélée à la taille réelle de la population, mais à sa taille efficace ([Encadré 8](#)), car tous les individus ne participent pas de manière uniforme à la reproduction et donc à la génération suivante.

### Encadré 8 : Définition de la taille efficace

La taille efficace d'une population ( $N_e$ ) est la taille que ferait une population idéale qui subit la même intensité de dérive génétique que la population étudiée (Wright 1931).

Et une population idéale se caractérise par :

- l'absence de migration
- l'absence de mutation
- l'absence de sélection
- l'union des gamètes au hasard
- l'absence de génération chevauchante
- un sex-ratio équilibré
- une taille de population constante (donc en moyenne un descendant par adulte)
- une faible variance de la taille des familles

La taille efficace ( $N_e$ ) est donc généralement plus faible que la taille réelle ( $N$ ) d'une population.

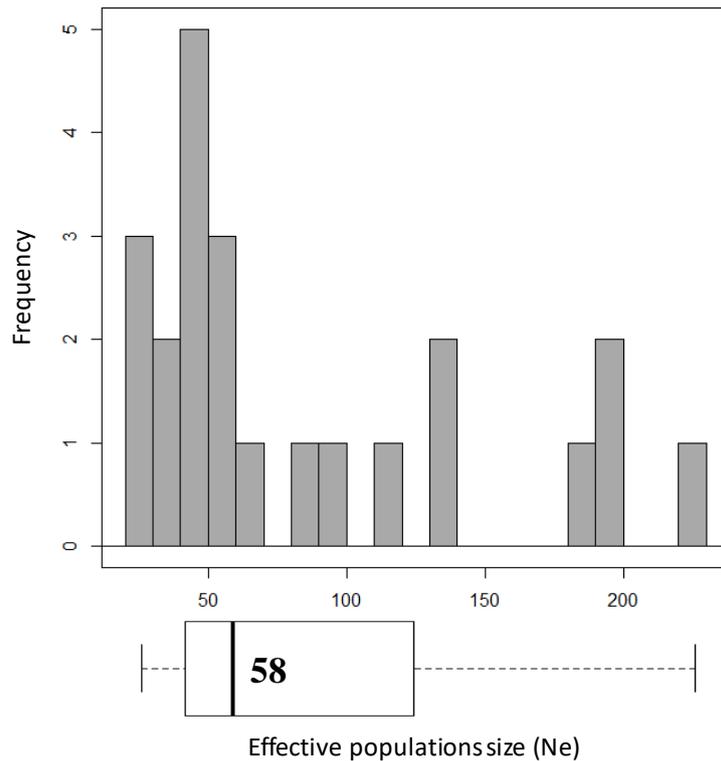
Pour étudier cette force évolutive qu'est la dérive génétique, j'ai mis en place une expérimentation afin i) d'estimer, pour la première fois, la taille efficace ( $N_e$ ) chez *Globodera pallida* et ii) d'explorer les causes du faible ratio  $N_e/N$  chez les nématodes à kyste.

Il existe deux grands types de méthodes permettant d'estimer la taille efficace : celles qui ne nécessitent qu'un seul échantillon pour estimer la taille efficace de la génération parentale, et celles qui nécessitent au moins deux échantillonnages séparés dans le temps. Les premières sont basées sur le déséquilibre de liaison et le taux d'hétérozygotie, un fort déséquilibre de liaison ou un fort taux d'hétérozygotie indiquant une forte différence de fréquence allélique entre les individus mâles et femelles de la génération parentale et donc potentiellement une faible taille efficace (Pudovkin et al 1996, Fraser et al 2007). Et les méthodes temporelles consistent à mesurer la variation de fréquence allélique entre plusieurs générations, une forte variation indiquant une faible taille efficace de la population (Waples 1989, Pollack 1983, Jorde & Ryman 1995, Wang 2001). Un fort déficit en hétérozygotes ayant été mis en évidence dans des populations de *G. pallida* (Picard et al 2004) nous avons privilégié ici l'utilisation de méthodes temporelles.

Plutôt que de travailler sur des populations naturelles, j'ai fait le choix d'utiliser des populations artificielles de *G. pallida*, ce qui permet i) de maximiser la diversité génétique dans les populations initiales, en mélangeant des kystes provenant de quatre populations péruviennes génétiquement diverses et différenciées mais qui ont un contenu larvaire identique, ii) d'assurer l'absence de générations chevauchantes, puisque *G. pallida* ne fait qu'une génération par an, iii) d'assurer l'absence de migration (pas de mouvement de terre d'un pot à l'autre) et iv) de minimiser et d'homogénéiser l'effet de la sélection, en utilisant une variété de pomme de terre (espèce clonale à multiplication végétative) sensible. Et j'ai suivi l'évolution des fréquences alléliques lors de la multiplication en conditions contrôlées de 24 populations indépendantes, en génotypant les populations initiales et finales avec un set de 12 marqueurs microsatellites (35 larves provenant de 35 kystes distinct par population).

La méthode temporelle de pseudo-vraisemblance de Wang (2001) a permis d'estimer  $N_e$  autour de 60 individus (Fig. 29, [P41]). Cette faible taille efficace, d'un ordre de grandeur équivalent à l'estimation obtenue à partir de populations d'*H. schachtii* prélevées dans le compartiment sauvage sur betterave maritime (Jan et al 2016), indique que la dérive génétique est très importante dans les populations de nématodes à kyste.

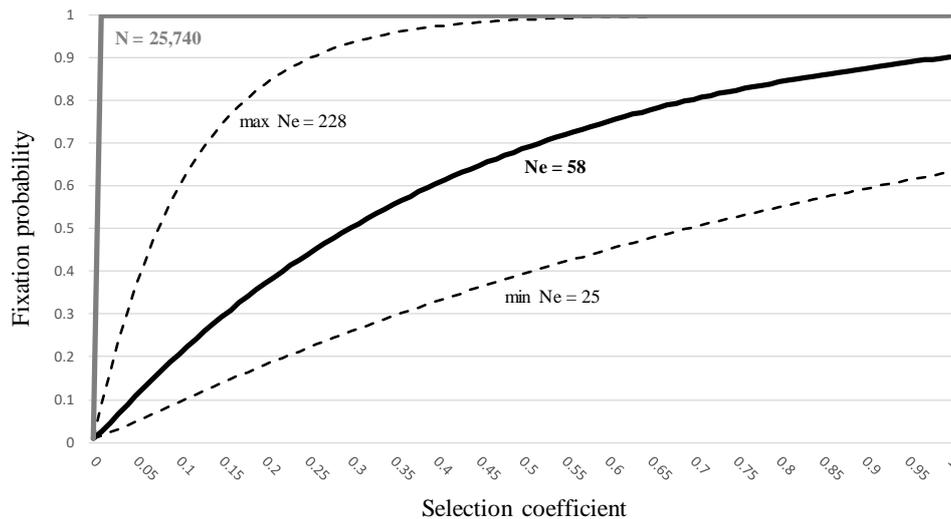
L'estimation de la taille réelle des populations ( $N$ ), obtenue en multipliant le nombre de kystes par le nombre de larves par kyste, a permis de calculer le ratio  $N_e/N$  et de le comparer à d'autres espèces. Ce ratio est très faible,  $N_e/N = 0.002$ , par rapport aux résultats d'une méta-analyse (incluant des plantes, des mammifères, des oiseaux, des poissons et des insectes) qui montrent que le ratio moyen est de 0.11 (Frankham 1995). Le ratio calculé pour *G. pallida* est proche des valeurs obtenues pour des poissons marins (e.g. Hoarau et al 2005).



**Figure 29** : La taille efficace ( $N_e$ ) est faible chez les nématodes à kyste. Pour *G. pallida*, l'estimation du  $N_e$  varie entre 25 et 228 individus, avec une médiane de 58 individus.

L'utilisation de populations artificielles nous a permis d'écartier certaines causes liées à des caractéristiques identiques à une population idéale (pas de migration, pas de générations chevauchantes, peu de sélection) et d'explorer les causes restantes pour expliquer un si faible ratio  $N_e/N$ . Puisqu'il n'y a eu qu'une génération lors de cette expérimentation, la variation de taille de population entre génération ne peut pas biaiser l'estimation du  $N_e$ . En revanche, le sex-ratio déséquilibré, autour de 60% de femelles sur une variété sensible ([P19]), la consanguinité, que nous avons mis en évidence dans les populations finales ([P41]) et la variance de la taille des familles, qui est forte pour plusieurs populations finales ([P41]) peuvent individuellement réduire l'écart entre  $N_e$  et  $N$ , mais seule la combinaison de ces trois caractéristiques peut permettre d'expliquer le très faible ratio  $N_e/N$  chez les nématodes à kyste.

Les conséquences d'un faible  $N_e$  peuvent être importantes pour le contrôle des nématodes à kyste, car dans les populations avec un faible  $N_e$ , la dérive génétique est forte et contre l'effet de la sélection (le risque d'éliminer les allèles bénéfiques par le simple effet de la dérive génétique est beaucoup plus grand). L'exploration théorique de la relation entre la probabilité de fixation d'un allèle et son avantage sélectif (Kimura 1962) montre que cette probabilité peut être contrastée lorsque l'on considère la taille efficace, alors qu'elle est toujours très forte lorsque l'on considère la taille réelle de la population (Fig. 30). Cependant, Der et al (2012) ont montré que chez les espèces qui produisent énormément de descendants (skewed offspring distribution), comme les poissons ou les champignons phytopathogènes, un allèle favorable a une probabilité de fixation forte même pour une taille efficace faible.



**Figure 30** : Probabilité de fixation d'un allèle favorable (fréquence initiale de 1%) en fonction de son coefficient de sélection pour une population diploïde avec une taille efficace de 58 individus (trait noir) ou une taille réelle de 25 740 individus (trait gris).

La faible taille efficace, mise en évidence ici, et donc la forte dérive génétique devrait limiter les capacités d'adaptation des nématodes à kyste. Et en ce qui concerne l'adaptation aux résistances des plantes, qui imposent une forte pression de sélection, nos résultats suggèrent que les meilleures stratégies de gestion des résistances seront celles qui permettent l'action de la dérive génétique, comme l'alternance entre variétés sensibles et résistantes, et donc aussi celles qui limitent les flux de gènes entre population, car dans des populations naturelles la migration peut compenser l'effet de la dérive.

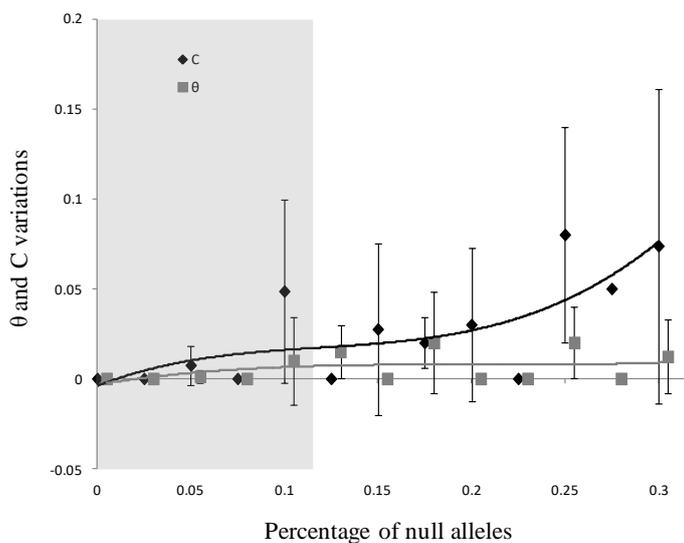
Dans l'objectif de comparer la taille efficace entre des populations issues du compartiment sauvage et des populations issues du compartiment cultivé, j'ai initié en 2018 une expérimentation pour estimer la taille efficace de populations d'*H. schachtii* prélevées dans des parcelles de betteraves sucrières (deux parcelles du nord de la France et prélèvements sur six plantes par parcelle en début et en fin de saison culturale),  $N_e$  que nous pourrions confronter au  $N_e$  estimé à partir de populations prélevées sur betteraves maritimes (Jan et al 2016).

## Migration : la dispersion active des larves et passive des kystes

La faible capacité de dispersion active des larves de nématodes entraîne une déviation par rapport à l'équilibre d'Hardy-Weinberg : un fort déficit en hétérozygotes ( $F_{IS} > 0$ ) a été mis en évidence chez de nombreuses espèces de nématodes à kyste (e.g. Picard et al 2004, Plantard & Porte 2004, [P25], Wang et al 2015, Wang et al 2018). Et l'origine de ce déficit en hétérozygotes n'a jamais été clairement identifié. Effectivement, un  $F_{IS}$  positif peut être causé par la présence d'allèles nuls dans le jeu de données, par de la consanguinité et/ou par un effet Wahlund (i.e. de la sous-structuration à une échelle plus fine que celle échantillonnée).

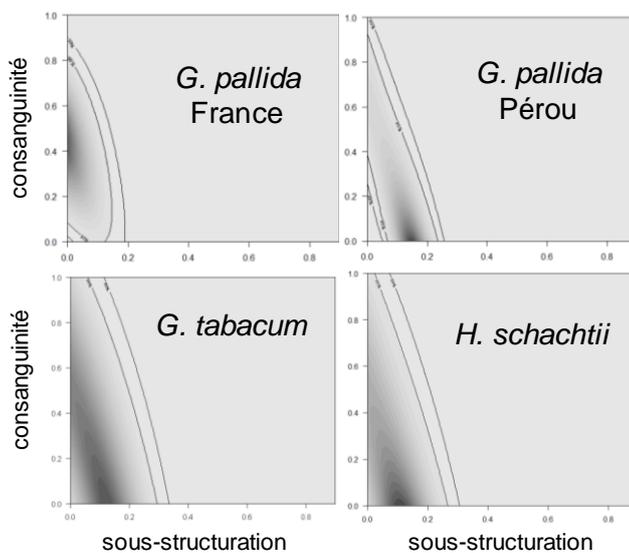
Nous avons entrepris d'explorer les causes et les conséquences du déficit en hétérozygotes chez les nématodes à kyste en génotypant avec des marqueurs microsatellites des populations de *G. pallida* (françaises et péruviennes), de *G. tabacum* et de *H. schachtii* échantillonnées à l'échelle de la plante hôte. Et pour dissocier consanguinité et effet Wahlund, nous avons utilisé une méthode développée par Overall & Nichols (2001) qui produit une matrice de vraisemblances en se basant sur le fait que la consanguinité (notée C) va concentrer les loci homozygotes au niveau de l'individu, alors que ce ne sera pas le cas pour de la sous-structuration (notée  $\theta$ ).

Nos résultats ont tout d'abord confirmé à l'échelle de la plante hôte que de nombreuses populations présentent un déficit en hétérozygotes significatif, et ce chez les trois espèces testées (*G. pallida*, *G. tabacum* et *H. schachtii*). La proportion d'allèles nuls a été estimée pour chaque marqueur en utilisant le logiciel INEst, et le marqueur qui en présente le plus a potentiellement 12% d'allèles nuls. L'absence de corrélation entre le  $F_{IS}$  et le pourcentage de données manquantes indique une faible contribution des allèles nuls au déficit en hétérozygotes. Et nous avons montré sur un jeu de données simulées que  $\theta$  (sous-structuration) n'est pas très sensible à une augmentation d'allèles nuls et que les variations de C (consanguinité) deviennent importantes seulement à partir de 20% d'allèles nuls (Fig. 31, [P26]). Donc nos données empiriques se trouvent dans une zone où le pourcentage d'allèles nuls n'a pas d'effet sur l'estimation de  $\theta$  et C.



**Figure 31** : Variation de  $\theta$  (sous-structuration) et C (consanguinité) en fonction du pourcentage d'allèles nuls sur des données simulées. Les marqueurs utilisés présentent au maximum 12% d'allèles nuls potentiels (zone grisée)

Pour les populations de *G. pallida* avec un  $F_{IS}$  significativement positif, le déficit en hétérozygotes s'explique par de la sous-structuration au Pérou et par de la consanguinité en France (Fig. 32, [P26]). Et pour *G. tabacum* et *H. schachtii*, le déficit en hétérozygote est majoritairement attribué à de la sous-structuration (Fig. 32, [P26]). Il semble donc que le déficit en hétérozygotes soit dû à de la consanguinité chez les espèces monovoltines et à de la sous-structuration (effet Wahlund) chez les espèces polyvoltines. Les populations péruviennes de *G. pallida* se comportent plus comme les espèces polyvoltines car les parcelles viennent d'une région vallonnée où l'agriculteur travaille le sol à la main uniquement, ce qui permet la mise en place d'une sous-structuration. A l'inverse, en France, la sous-structuration semble être gommée par les mouvements de terre, dus au labour et à la récolte, et qui vont isoler les kystes.



**Figure 32 :** Exemples de matrices de vraisemblance obtenues pour les populations de *G. pallida* (françaises et péruviennes), de *G. tabacum* et de *H. schachtii*. Le point le plus foncé indique le maximum de vraisemblance.

Cette étude a donc confirmé que la faible capacité de migration active des nématodes à kyste entraîne des déficits en hétérozygotes, que ces déficits ne sont pas dus à la présence d'allèles nuls, et qu'ils peuvent avoir des causes différentes, et ce même au niveau intra-spécifique. Le fait d'avoir mis en évidence de la consanguinité chez certaines populations de *G. pallida* a des conséquences en termes de contournement des résistances puisque les croisements consanguins mènent tous les loci vers l'homozygotie, y compris ceux impliqués dans la virulence. Et comme la virulence est majoritairement récessive, i.e. ne s'exprime qu'à l'état homozygote, cette consanguinité peut faciliter le contournement des résistances des plantes.

Alors que les larves ont une faible capacité de dispersion, les kystes peuvent être dispersés de manière passive sur de longues distances. Cette dispersion des kystes peut aboutir à des flux de gènes importants entre populations proches et également à des événements plus rares d'introduction, depuis un continent vers un autre.

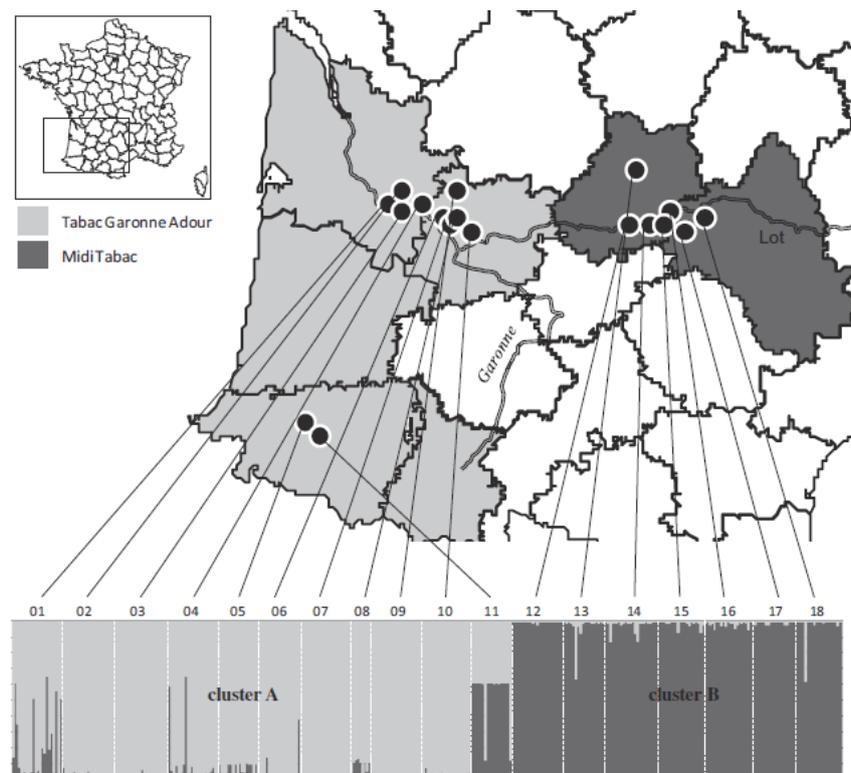
Nous avons par exemple montré, lors de la thèse de Charline Alenda (doctorante que je n'ai pas directement encadrée), l'effet de l'organisation des pratiques agricoles sur la structuration des populations françaises de *G. tabacum*. Cette espèce renferme trois sous-

espèces (Stone et al 1983) : *Globodera tabacum tabacum* (Gtt), *Globodera tabacum virginiae* (Gtv) et *Globodera tabacum solanacearum* (Gts). La distribution géographique de ces sous-espèces est relativement mal connue. Les trois sous-espèces sont présentes dans l'est des USA, Gtv et Gts sont présentes au Mexique, et en Europe, seule la sous-espèce Gtt avait été décrite (Johnson et al 2005), même si nous avons détecté pour la première fois en Europe la sous espèce Gtv lors des prélèvements susmentionnés à l'échelle de la plante ([P28]).

Dans le cadre de cette étude, 18 populations ont été échantillonnées dans des parcelles de tabac situées dans deux coopératives agricoles du sud-ouest de la France. Toutes ces populations ne renferment que des individus de la sous-espèce Gtt. Et pour chaque population, entre 15 et 25 larves provenant de kystes différents ont été génotypées avec un set de neuf marqueurs microsatellite qui ont été développés pour *G. pallida* et *G. rostochiensis* et qui cross-hybrident avec *G. tabacum*.

L'utilisation de différentes méthodes de clustering sans a priori (STRUCTURE et ACP) a permis d'identifier clairement deux clusters génétiques distincts avec une bonne assignation des individus à l'un ou à l'autre des deux clusters (à l'exception d'une populations). Et les deux groupes génétiques correspondent aux limites des deux coopératives tabacoles, Tabac Garonne Adour (TGA) à l'Ouest et Midi Tabac (MT) à l'Est, ce qui illustre l'impact des activités humaines (et de l'organisation des travaux agricoles dans le cas présent) sur la dispersion de *G. tabacum* en particulier et des populations de nématodes à kyste en général (Fig.33, [P25]).

**Figure 33** : Les populations de *G. tabacum* sont structurées en deux clusters génétiques (cluster A et cluster B) qui correspondent aux deux coopérative tabacoles du sud-ouest de la France. Les individus de la population n°11 sont moins bien assignés, mais cette population est aussi celle qui présente le plus faible niveau de diversité.

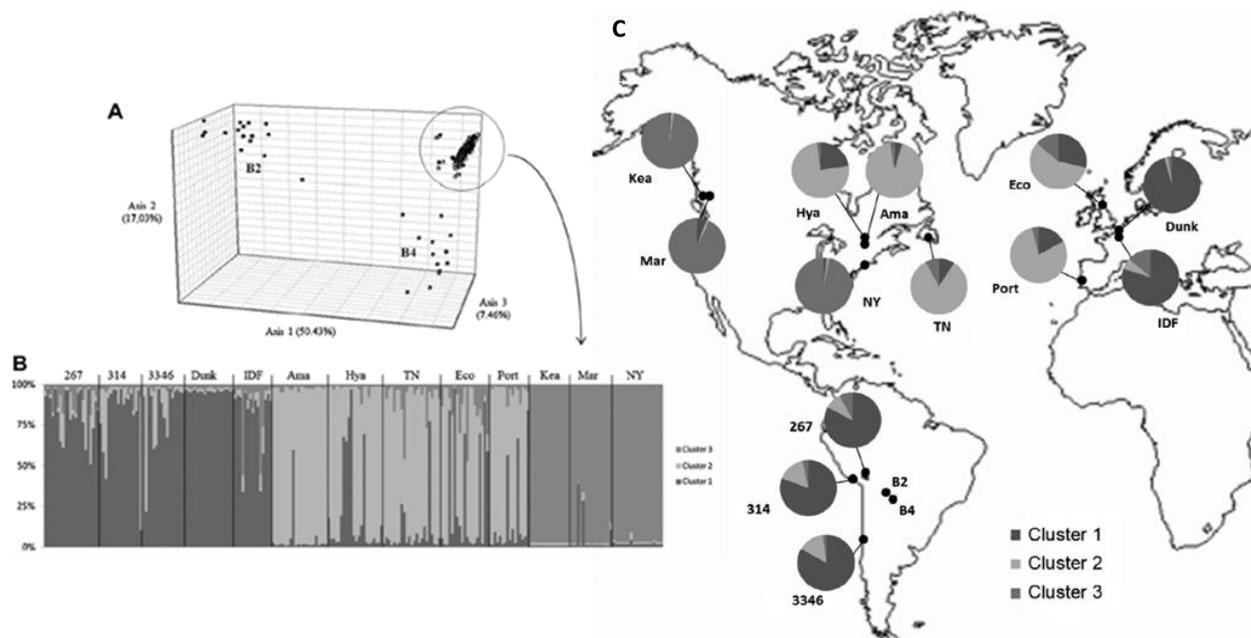


La matrice des  $F_{ST}$ , i.e. l'indice de différenciation entre populations, et l'AMOVA, i.e. la répartition de la diversité génétique entre les coopératives, entre les populations et au sein des populations ([P25]), montrent que les flux de gènes entre populations sont plus faibles pour *G. tabacum* que pour *G. pallida* (Picard et al 2004) ou *H. schachtii* (Plantard & Porte al 2004).

Et ceci s'explique par le fait que le transport de terre lié à récolte est inexistant pour le tabac, contrairement à la pomme de terre ou la betterave (Ruyschaert et al 2007a, 2007b). Et à une échelle plus fine, le fait que les  $F_{ST}$  intra-coopérative et la proportion d'allèles privés soient plus faibles au sein de la coopérative MT qu'au sein de la coopérative TGA ([P25]), suggère que les échanges entre parcelles liés à la mutualisation des engins agricoles sont plus importants dans les coopératives regroupant de gros producteurs (cas de MT) que dans celles regroupant de petits producteurs (cas de TGA).

Concernant les échanges planétaires, nous avons mené une étude sur le nématode doré de la pomme de terre, *Globodera rostochiensis*, dans le cadre d'une collaboration avec nos collègues Canadiens (B. Mimee, G. Bélair et P. Moffett). Nous avons ainsi accueilli une étudiante (Annie Christine Boucher) d'un niveau équivalent au Master 2 pour un séjour de six mois. *G. rostochiensis* ayant été détecté dans la province du Québec, l'objectif était de génotyper avec un set de marqueurs microsatellites les populations québécoises ainsi qu'un ensemble de populations récoltées à travers le monde et maintenues en collection au laboratoire afin d'étudier la structuration génétique de ce nématode à une échelle spatiale large.

Nos résultats montrent que les populations boliviennes présentent la plus forte diversité génétique (Fig. 34A, [P22]), ce qui appuie l'hypothèse que le centre d'origine de cette espèce est la Bolivie (Evans et al 1975, Evans & Stone 1977). Les populations québécoises clusterisent avec des populations européennes mais sont très différentes des populations américaines (Fig. 34B et 34C, [P22]), ce qui montre que *G. rostochiensis* a été introduit au moins deux fois sur le continent nord-américain et à partir de différentes populations sources. Ces résultats sont importants pour la gestion des foyers québécois : les méthodes de lutte efficaces face aux populations européennes (comme des variétés résistantes) sont aujourd'hui privilégiées.



**Figure 34 :** Les populations boliviennes (B2 et B4) sont très distantes génétiquement et plus diverses que les autres populations de *G. rostochiensis* (A). Trois clusters génétiques ont été identifiés et les populations québécoises (Hya, Ama et TN) clusterisent avec des populations européennes (B et C).

Afin de continuer à décrire les échanges entre les différents continents pour cette espèce de nématode à kyste, nous avons initié cette année deux collaborations : la première avec un collègue allemand du JKI (S. Kiewnick) qui a récupéré des populations kenyanes de *G. rostochiensis* (via un doctorant kenyan, James Mwangi, qui réalise sa thèse en Allemagne et qui est venu faire le génotypage de ses populations au laboratoire), et la seconde avec un collègue belge de l'université de Gent (W. Bert) qui a récupéré des populations indonésiennes de ce même nématode. Une équipe australienne vient de montrer, en utilisant notre set de marqueurs microsatellites ([P22]), que les populations australiennes de *G. rostochiensis* sont génétiquement distinctes des clusters génétiques que nous avons identifiés (Blacket et al 2019). Le génotypage des populations kenyanes et indonésiennes permettra de compléter notre connaissance de l'histoire évolutive et des routes d'introduction de *G. rostochiensis* à l'échelle planétaire.

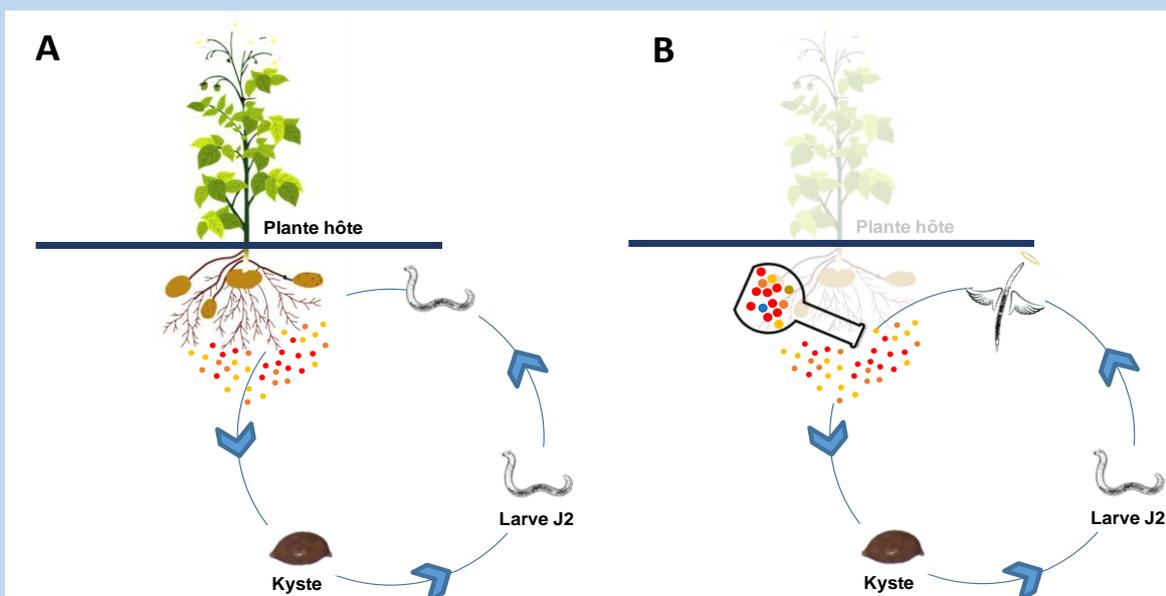
Dans le même ordre d'idée mais sur un autre nématode, nous avons échangé des populations d'*H. schachtii* avec un collègue coréen de l'université de Séoul (J.K. Park). Son équipe a récemment mis en évidence que les populations coréennes sont très différentes de populations originaires d'Europe, d'Australie, des USA et d'Iran, et leur analyse ABC montre que le scénario le plus probable est que les populations coréennes proviennent d'une population fantôme, i.e. non présente dans le jeu de données utilisé (Kim et al 2019). Ayant récemment montré que les populations méditerranéennes (Espagne et Maroc) sont différentes des populations du reste de l'Europe (France, Allemagne, Autriche, Pologne et Ukraine) en termes de réponse à la température pour plusieurs traits d'histoire de vie ([P39]), nous souhaitons tester l'hypothèse d'une proximité génétique entre les populations coréennes et méditerranéennes.

## Biocontrôle : le concept d'éclosion suicide

Lors de ces dernières années, je me suis fortement investi dans le montage puis la mise en œuvre du projet BIODERA. Ce projet Investissement d'Avenir, financé par l'ADEME sur quatre ans (2017-2020), associe le CMI du groupe Roullier, la FN3PT, le laboratoire GlycoMEV de l'université de Rouen et l'IGEPP. Il a pour objectif de développer de nouveaux produits de biocontrôle contre les nématodes phytoparasites, en prenant en compte la diversité des modes d'actions possibles et en anticipant leur niveau d'efficacité dans différents environnements, variant en fonction de la diversité génétique des nématodes ciblés et de la composition microbiologique des sols. Deux solutions complémentaires de biocontrôle sont explorées : i) utilisation de substances naturelles issues d'algues ayant un effet nématocide et ii) utilisation d'exsudats racinaires provoquant l'éclosion des kystes (ou des œufs contenus dans les kystes pour être précis) en l'absence de la plante hôte (= éclosion suicide, Encadré 9). Notre implication concernant prioritairement l'effet éclosion suicide, je ne mentionnerai pas ici les résultats obtenus sur l'effet nématocide des extraits d'algues. De plus, et afin de respecter l'accord de consortium signé entre les différents partenaires du projet, les exsudats utilisés sont ici codés.

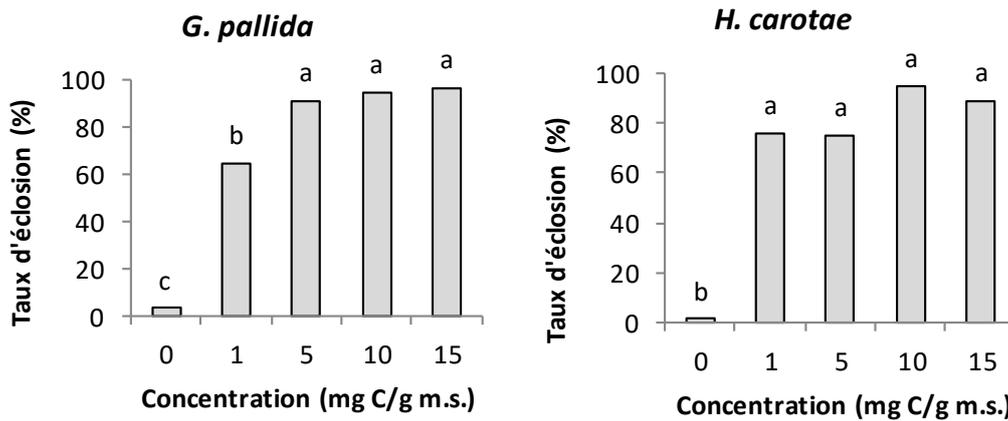
### Encadré 9 : L'éclosion suicide

L'éclosion des œufs contenus dans les kystes étant pour la plupart des espèces de nématodes à kyste déclenchée par la perception de l'exsudat racinaire produit par les racines de la plante hôte (Fig. 35A), l'idée derrière le concept d'éclosion suicide est d'utiliser des exsudats racinaires, ou des molécules identifiées dans les exsudats, pour provoquer l'éclosion en absence de la plante hôte. Les larves écloses ne survivraient alors que 10-15 jours dans le sol avant de mourir (Fig. 35B).



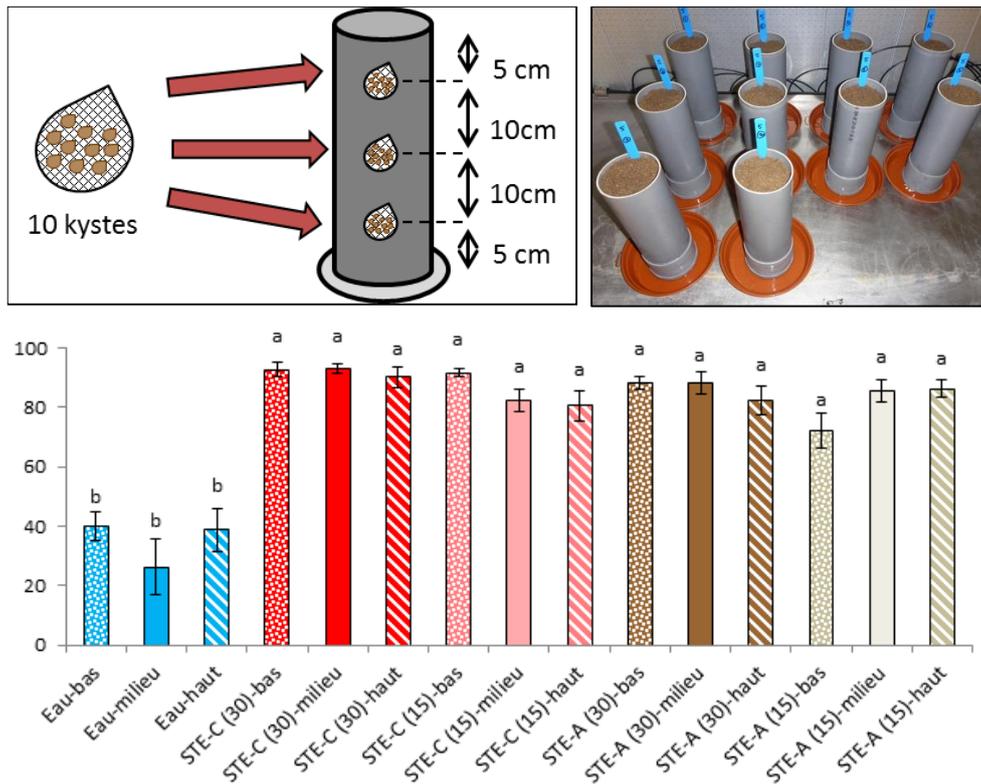
**Figure 35** : Eclosion naturelle en présence de la plante hôte (A) et éclosion suicide provoquée par un produit de biocontrôle (B).

La première étape a consisté à produire des exsudats à partir de 86 espèces végétales et à mesurer leur capacité à provoquer l'éclosion de kystes de *G. pallida*, *H. schachtii* et *H. carotae*. Cette étape de criblage in vitro a permis de sélectionner des exsudats provoquant l'éclosion de *G. pallida* et *H. carotae*. En revanche pour *H. schachtii*, le pourcentage d'éclosion n'est pas significativement différent entre les exsudats et le témoin eau. Le criblage ayant été réalisé à la dose de 30 mg de carbone par g de matière sèche, nous avons ensuite réalisé des tests d'optimisation de la dose d'application qui montrent que l'effet est maintenu même à une dose faible (Fig. 36).



**Figure 36** : Eclotions cumulées des larves de *G. pallida* (à gauche) et *H. carotae* (à droite) face à une gamme de concentration d'exsudats racinaires (0-15 mg C/g ms) au bout de 45 jours.

Les exsudats retenus sont ensuite testés en conditions contrôlées pour leur efficacité sur des kystes placés à différentes profondeurs dans des colonnes de sol de 30 cm (Fig. 37). Les premiers résultats, obtenus pour *G. pallida*, sont très encourageants puisque l'éclosion a été stimulée par les deux exsudats testés et qu'il n'y a ni d'effet dose, ni d'effet de la profondeur à laquelle les kystes ont été placés (Fig. 37). Nous n'obtiendrons pas de résultats équivalents pour *H. schachtii*, puisque l'éclosion de cette espèce à gamme d'hôte large est beaucoup moins dépendante des exsudats radiculaires, mais plusieurs extraits d'algues semblent avoir un effet nématocide sur les larves de *H. schachtii*. En revanche, l'éclosion d'*H. carotae* étant très lié à la présence d'exsudats, nous réalisons actuellement cette expérimentation en conditions contrôlées pour cette espèce. L'étape suivante sera de produire des granulés contenant de l'exsudat lyophilisé afin de réaliser des essais au champ.

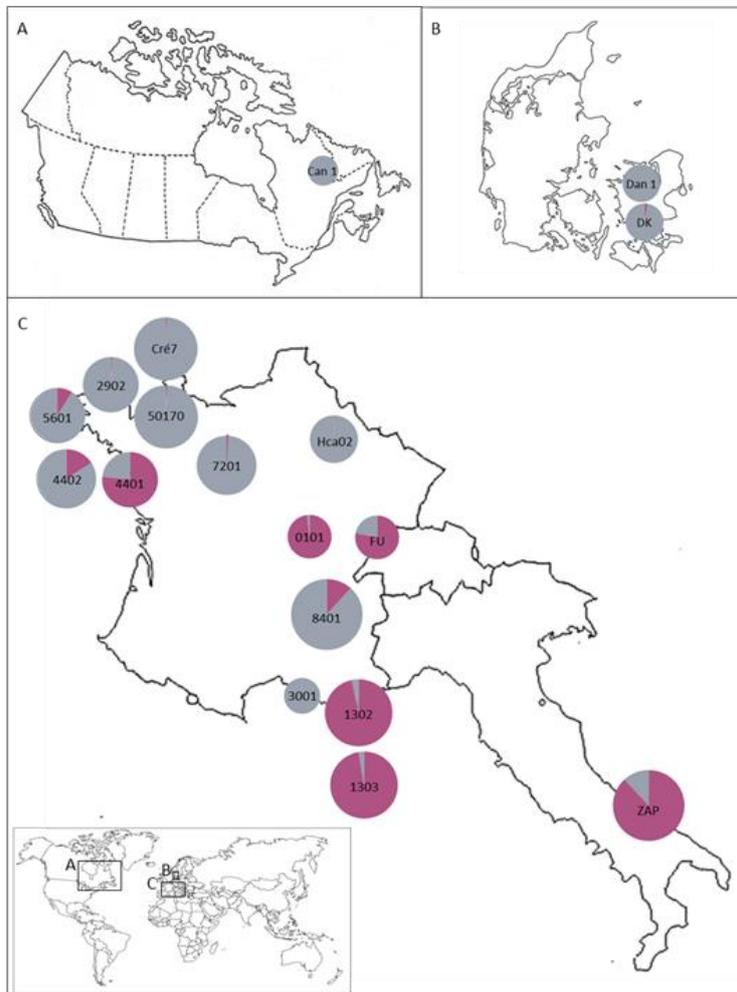


**Figure 37** : Schéma (en haut à gauche) et photo (en haut à droite) du dispositif expérimental utilisé pour les tests en conditions contrôlées. Le graphique (en bas) montre le pourcentage d'éclosion obtenu pour des kystes de *G. pallida* placés à trois hauteurs et ayant reçu deux exsudats (STE-A et STE-C) à deux doses (15 et 30 mg C/g ms) ou de l'eau (témoin).

Le travail de thèse de Camille Gautier, qui est pleinement intégré à ce projet, est centré sur l'étude de l'éclosion des nématodes à kyste et vise, d'un point de vue appliqué, à anticiper l'efficacité spatiale des produits provoquant l'éclosion des œufs par rapport à la diversité génétique des populations de nématodes (*G. pallida*, *H. schachtii* et *H. carotae*) et à la diversité microbienne des sols. Ses résultats auront un impact sur la décision ultérieure de privilégier soit des produits à gamme d'efficacité large, soit différents produits à gammes étroites dans différentes régions de France, d'Europe ou du monde.

Nous souhaitons ainsi étudier l'efficacité des exsudats retenus face à plusieurs populations représentatives de la diversité génétique de chaque espèce. Nous disposons au laboratoire de collections de populations échantillonnées à travers le monde et qui représentent une grande partie de la diversité génétique mondiale de *G. pallida*, *H. schachtii* et *H. carotae*. Mais contrairement aux espèces *G. pallida* et *H. schachtii*, pour lesquelles plusieurs études de génétique des populations sont publiées (e.g. Plantard & Porte 2004, Picard & Plantard 2006, Picard et al 2007, Plantard et al 2008, Gracianne et al 2016), la structuration génétique des populations de *H. carotae* n'était pas connue au départ de ce projet. Nous avons donc développé un set de 13 marqueurs microsatellites polymorphes pour cette espèce. Dix-huit populations de *H. carotae* (13 françaises, 2 danoises, 1 italienne, 1 suisse et 1 canadienne) ont été génotypées avec ce set de marqueurs à raison d'environ 35 individus par population.

Comme pour les autres espèces de nématodes à kyste, 14 des 18 populations présentent un déficit en hétérozygotes significatif ( $F_{IS} > 0$ ). Une analyse de structuration génétique a permis d'identifier deux clusters génétiques distincts séparant les populations de nord (plus la population canadienne) de celles du sud de l'Europe (Fig. 38, [P42]).

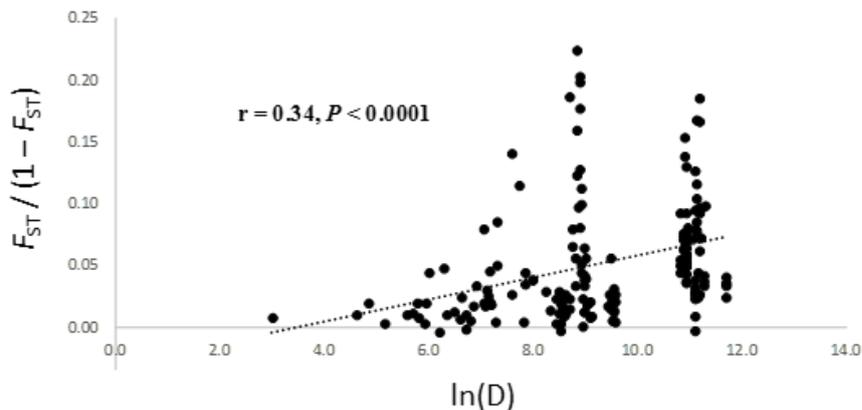


**Figure 38** : Appartenance (% d'assignation) des 18 populations de *H. carotae* aux deux clusters génétiques identifiés. La taille des cercles représente le niveau de diversité génétique des populations.

L'origine de ces deux groupes génétiques reste à déterminer et l'hypothèse que nous privilégions est que cette structure est le résultat de l'histoire évolutive de la carotte cultivée, qui renferme deux groupes génétiques distincts (Baranski et al 2012, Iorizzo et al 2013, Grzebelus et al 2014). Tester cette hypothèse nécessitera l'échantillonnage de nouvelles populations en Asie centrale, et en particulier en Afghanistan et Turquie qui ont été identifiés comme les potentiels régions de domestication de cette espèce (Simon 2000, Stolarczyk & Janick 2011).

Cette première étude montre aussi que les flux de gènes au sein des deux clusters sont faibles ( $F_{ST} = 0.40$  au sein du cluster 1 et  $F_{ST} = 0.32$  au sein du cluster 2, [P42]). Dans le but de définir des stratégies de lutte contre *H. carotae*, il est désormais nécessaire d'étudier les flux de gènes entre populations à une échelle spatiale plus fine. Nous avons mené une telle étude sur 19 populations échantillonnées à l'échelle spatiale de la Manche qui renferme trois bassins de production (Créances, Mont St-Michel et Val de Saire). Nos résultats montrent une absence de

structuration génétique à cette échelle spatiale, des  $F_{ST}$  entre populations faibles et un patron d'isolement par la distance (Fig. 39, Esquibet et al soumis). Dans cette région où les parcelles sont utilisées pour les productions de carottes et de poireaux, les importants flux de gènes mis en évidence ici sont probablement liés aux transports de terre, via les engins agricoles et le plant de poireau, entre les parcelles d'un même bassin, et aux échanges de plants de poireau entre les trois bassins de production.



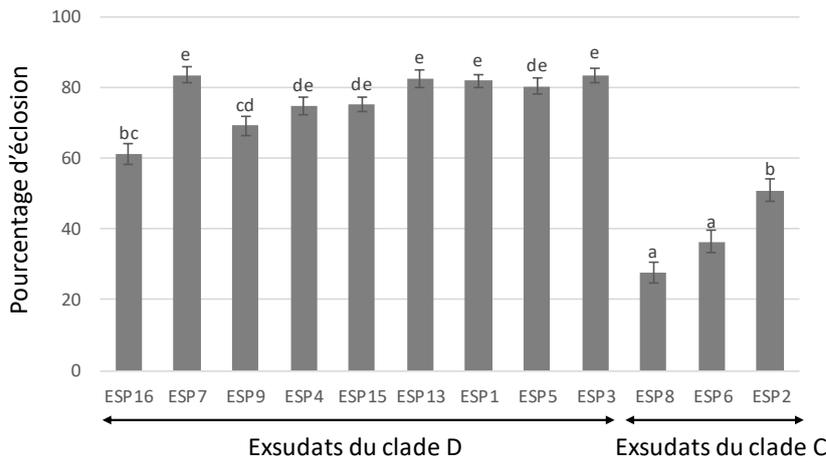
**Figure 39 :** Patron d'isolement par la distance (i.e. corrélation positive entre distance génétique et distance géographique) entre les paires de populations d'*H. carotae* échantillonnées à l'échelle de la Manche.

Un échantillonnage à l'échelle des plantes, dans deux parcelles du bassin de production de Créances, nous a également permis de montrer que le déficit en hétérozygote d'*H. carotae* est dû à de la sous-structuration (Esquibet et al soumis), comme chez les autres espèces de nématodes à kyste qui réalisent plusieurs générations par saison culturale ([P26]).

En ce qui concerne la confrontation des exsudats racinaires à la diversité génétique des trois espèces de nématodes, nous avons maintenant sélectionné des représentants pour chacune des trois espèces (6 populations d'*H. schachtii*, 8 populations d'*H. carotae* et 11 populations de *G. pallida*). Ces populations ont été multipliés en conditions contrôlées et nous réalisons actuellement les tests d'éclosion.

Toujours dans le cadre de la thèse de Camille Gautier, nous avons entrepris de tester l'hypothèse d'un patron d'adaptation différentielle entre la plante et le nématode pour un trait de vie très dépendant de la plante, l'éclosion des kystes. Nous avons ainsi confronté 13 populations péruviennes de *G. pallida*, appartenant aux cinq clades génétiques qui se répartissent du sud au nord du Pérou (Picard et al 2007), à des exsudats produits à partir de graines de 12 espèces de Solanacées tubéreuses sauvages que nous nous sommes procurées auprès du CRB de Wageningen (Pays-Bas). Ces espèces péruviennes sont également réparties du sud au nord du Pérou et appartiennent à deux clades génétiques de la phylogénie des Solanacées : le clade C au nord et le clade D au sud (Spooner & Castillo 1997).

Nous avons détecté un effet exsudat, un effet population et un effet de l'interaction, mais l'effet exsudat est le plus fort et montre que les Solanacées du nord du Pérou, i.e. du clade C, produisent des exsudats qui font moins bien éclore les nématodes que les exsudats produits par les Solanacées du sud du Pérou, i.e. du clade D (Fig. 40). En revanche, les différences entre les populations de nématodes ne sont pas liées à leur appartenance aux différents clades génétiques.



**Figure 40** : L'effet exsudat est fort ( $F_{11,660} = 56.55$  ;  $P < 0.0001$ ) et montre que les exsudats du clade C font moins bien éclore les nématodes que les exsudats du clade D.

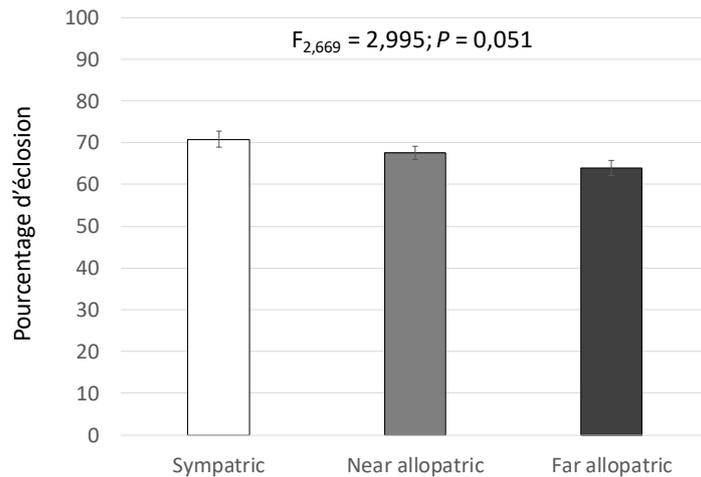
Afin de tester l'hypothèse d'un patron d'adaptation locale, nous avons découpé la matrice géographique (Fig. 41) en trois catégories (Adiba et al 2010, Blanquart et al 2013) : des combinaisons sympatriques (i.e. populations de nématodes et espèces de Solanacées distantes de moins de 225 km), des combinaisons allopatriques proches (ou near allopatric : entre 225 et 900 km) et des combinaisons allopatriques éloignées (ou far allopatric : plus de 900 km).

Populations	Exsudates											
	ESP16	ESP7	ESP9	ESP4	ESP15	ESP13	ESP1	ESP5	ESP3	ESP8	ESP6	ESP2
P299	176.4	99.7	337.6	349.8	411.3	374.7	461.9	922.9	926.7	1164.7	1268.9	1570.1
P308	130.7	23.8	260.3	272.1	335.6	297.9	392.1	851.3	851.3	1088.0	1193.5	1493.9
P320	294.5	188.2	243.9	255.4	283.1	262.9	285.1	738.2	764.2	1008.0	1101.4	1425.3
P252	234.9	225.2	25.2	31.2	103.9	64.0	201.8	629.2	614.2	846.2	955.0	1248.9
P240	284.4	264.4	26.6	20.5	54.8	14.6	152.4	580.8	569.9	805.3	911.9	1211.3
P212	397.1	352.0	149.6	146.9	89.9	116.6	27.9	486.0	499.0	743.0	839.1	1158.7
P214	407.7	362.4	159.5	156.3	96.7	125.5	17.5	476.1	490.4	735.1	830.0	1150.6
P233	354.5	316.9	101.9	98.5	47.9	68.6	74.9	518.5	521.6	763.0	863.5	1175.4
P323	594.3	562.5	336.6	328.7	256.1	296.0	189.1	273.3	294.4	540.0	629.5	959.0
P167	1014.7	1004.3	765.4	754.2	687.4	725.9	644.2	213.7	171.6	113.6	173.2	516.8
P84	1182.5	1180.4	939.9	929.2	863.9	901.2	828.7	401.8	350.6	115.2	49.2	328.7
P115	1231.2	1238.3	997.5	986.1	924.4	960.2	900.3	496.5	425.1	179.6	158.7	240.1
p152	1457.5	1468.8	1228.3	1216.7	1156.2	1191.5	1133.9	722.2	658.3	412.4	352.4	9.8

Legend  
 < 225 km Sympatric  
 225 - 900 km Near allopatric  
 > 900 km Far allopatric

**Figure 41** : Matrice de distances géographiques (exprimées en km) entre les populations de *G. pallida* et les espèces de Solanacées tubéreuses sauvages.

Et les résultats montrent que, malgré une tendance et une *P*-value proche du seuil de significativité, il n'a pas été possible de mettre en évidence un patron d'adaptation différentiel entre les populations de nématodes et les exsudats (Fig. 42). Ceci nous amène à formuler l'hypothèse que le signal de coévolution a été perdu lors du passage du compartiment sauvage au compartiment cultivé, car nous avons utilisé ici des populations de *G. pallida* issues du champ et non prélevées directement dans le milieu sauvage sur des Solanacées sauvages. L'hypothèse alternative étant que *G. pallida* n'ait pas coévolué avec des Solanacées tubéreuses, mais avec une autre espèce végétale, comme des tomates sauvages par exemple (e.g. Böndel et al 2015).



**Figure 42 :** L'absence d'effet significatif entre les trois combinaisons (sympatric, near allopatric et far allopatric) ne permet pas de mettre en évidence un patron d'adaptation locale entre la plante et le nématode.

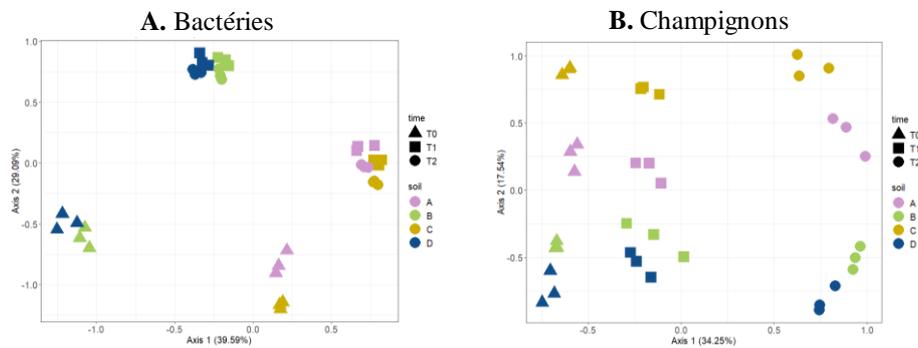
D'un point de vue appliqué, le fait que les exsudats du clade C soient moins performants que ceux du clade D pour faire éclore les nématodes pourra être utilisé 1) pour développer des produits de biocontrôle provoquant l'éclosion suicide à partir de Solanacées sauvage du sud du Pérou et/ou 2) dans des schémas de sélection visant à obtenir des variétés de pomme de terre qui font moins efficacement éclore les nématodes en privilégiant des géniteurs provenant du nord du Pérou. A ce propos, il faut savoir que la très grande majorité des géniteurs qui ont été utilisés pour améliorer les variétés européennes de pomme de terre provenait du sud du Pérou (communication personnelle Marie-Claire Kerlan et Florence Esnault).

Enfin, et toujours avec l'idée d'anticiper l'efficacité de tels produits de biocontrôle, nous avons souhaité tester l'effet du microbiote du sol sur l'activité des exsudats. L'objectif est de déterminer si le type de sol et le microbiote associé ont un effet i) sur la qualité des exsudats produits par la plante et ii) sur la dégradation des exsudats. Ces deux volets sont réalisés en collaboration avec nos collègues de l'unité spécialistes de l'écologie microbienne du sol (Christophe Mougel et Lionel Lebreton) et ont été respectivement confiés à des étudiants de M2 en 2018 (Romain Darriaut) et 2019 (Lisa Martinez).

Concernant l'effet du microbiote sur les exsudats produits par la plante, différents sols agricoles (n=12) ont été retenus et leurs caractéristiques physico-chimiques ont été déterminées. Une ACP sur ces caractéristiques physico-chimiques a permis de choisir quatre sols très différents dans le but d'avoir des compositions microbiologiques également contrastées. Afin de dissocier l'effet du sol en général (physico-chimie + microbiote) de l'effet du microbiote seul, une matrice de sol stérile a été inoculée à partir des microbiotes extraits des sols agricoles d'origine. Une production d'exsudats de pomme de terre a été ensuite réalisée dans les sols d'origines et dans les sols stériles inoculés. L'utilisation de la pomme de terre, espèce à reproduction végétative, permet d'éliminer tout biais dans la production des exsudats dû à la variabilité entre plantes. Enfin, l'efficacité des exsudats produits à faire éclore *G. pallida* a été mesurée in vitro et comparée entre les différents sols et entre les différents microbiotes.

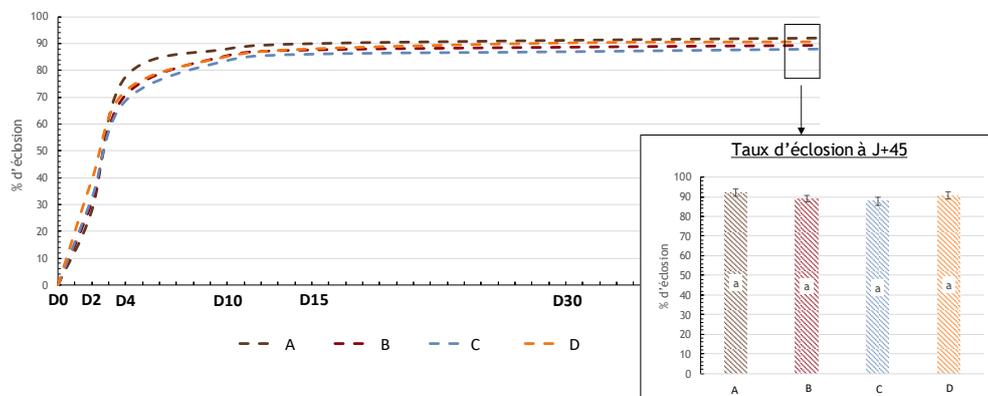
Une approche de métagénomique a permis de déterminer la composition microbienne (amplification et séquençage Illumina des ARN 16S pour les bactéries et 18S pour les champignons) des sols agricoles et des sols stériles inoculés. L'analyse de la  $\beta$ -diversité montre que les microbiotes bactériens et fongiques sont distincts entre les différents sols (i.e. au moins

2 groupes présentant des abondances contrastées pour les bactéries et 4 groupes pour les champignons), que ce soit pour les sols agricoles ou les sols recolonisés (Fig. 43).



**Figure 43** : dbRDA sur les abondances en séquences (ASV) bactériennes (A) et fongiques (B) dans les différents sols (A, B, C et D). T0 correspond aux sols agricoles initiaux, T1 à la matrice stérile recolonisée avec les microbiotes des différents sols et T2 à ces mêmes sols après culture de la pomme de terre.

Les tests d'éclosion n'ont pas permis de mettre en évidence d'effets ni de la combinaison physico-chimie + microbiote (sols agricoles), ni du microbiote seul (sols recolonisés) sur l'efficacité des exsudats produits à faire éclore les kystes de *G. pallida* (Fig. 44). Ainsi, lorsque la plante est présente, et produit donc de l'exsudat en continu, le microbiote n'a pas d'effet sur l'éclosion des kystes de *G. pallida*.

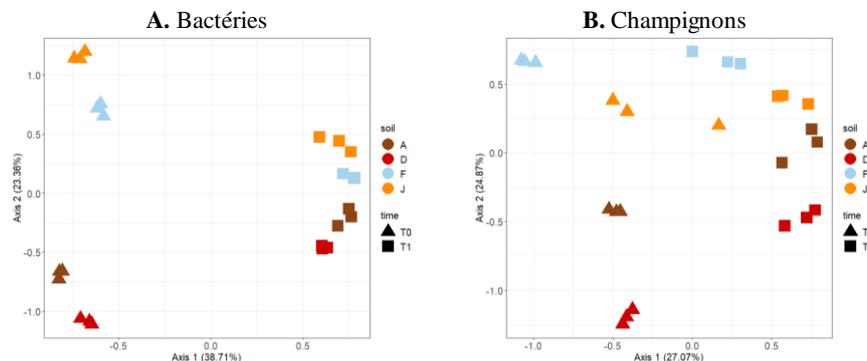


**Figure 44** : Dynamique d'éclosion de kystes de *G. pallida* confrontés in vitro aux exsudats produits dans le sol stérile inoculé par les microbiotes issus des sols agricoles A, B, C et D. L'historgramme de droite montre le pourcentage d'éclosion final (à 45 jours).

L'effet du microbiote du sol sur la dégradation des exsudats apportés seuls (en l'absence de plante) a été abordée en 2019 (stage Lisa Martinez) en utilisant la même stratégie de recolonisation d'une matrice de sol stérile, afin de dissocier les effets, et en plaçant des kystes directement dans les différents sols. Les sols ont ensuite reçu deux doses d'exsudat de pomme de terre ou de l'eau (témoin).

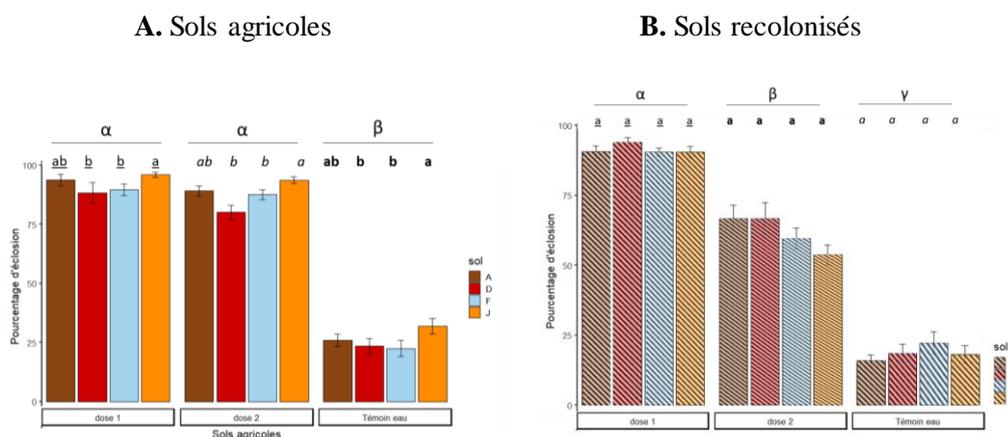
Les données de métagénomique montrent que les microbiotes bactériens et fongiques sont distincts entre les différents sols, que ce soit pour les sols agricoles ou les sols recolonisés

(Fig. 45). Ces analyses montrent aussi que les communautés bactériennes sont plus proches suite au processus de recolonisation du sol stérile.



**Figure 45** : dbRDA sur les abondances en séquences (ASV) bactériennes (A) et fongiques (B) dans les différents sols (A, D, F et J). T0 correspond aux sols agricoles initiaux et T1 à la matrice stérile recolonisée avec les microbiotes des différents sols.

Les résultats montrent que l'éclosion est significativement stimulée par l'exsudat (Fig. 46). Il y a une légère différence entre les sols agricoles, mais l'éclosion reste forte (comprise entre 85 et 95%), et pas de différence entre les sols recolonisés (Fig. 46). L'effet dose ne s'exprime que dans les sols recolonisés. Nous explorons actuellement l'abondance des différents genres bactériens dans les sols recolonisés afin de tester l'hypothèse que des espèces fortement consommatrices de carbone sont devenues majoritaires dans l'ensemble des sols recolonisés, ce qui pourrait expliquer cet effet dose.



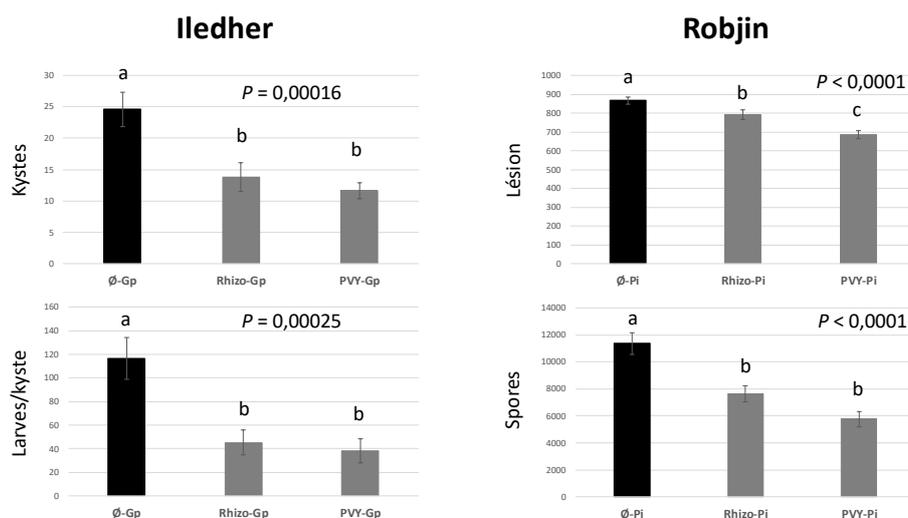
**Figure 46** : Pourcentage d'éclosion de kystes de *G. pallida* placés dans des sols agricoles (A) et recolonisés (B) traités par deux doses d'exsudat (dose 1 > dose 2) ou de l'eau.

En conclusion de ces deux expérimentations, il semble que le microbiote du sol n'a pas d'effet sur la capacité des exsudats à stimuler l'éclosion, qu'ils soient produits directement par la plante ou apportés seuls (en absence de la plante).

## Perspectives

Mes perspectives à court et long termes concernent autant le volet sur l'**adaptation aux résistances** que le volet sur le **biocontrôle**. Je souhaite également m'intéresser davantage à la **phase de survie** des kystes dans le sol. Et j'envisage éventuellement de poursuivre mon implication sur un volet **multipathogènes**.

En effet, j'ai été de 2015 à 2017 à l'initiative d'une expérimentation **multipathogènes** chez la pomme de terre qui a regroupé les personnels de l'unité spécialistes de la génétique de la plante ou de différents agents pathogènes. L'enjeu était de déterminer si l'efficacité des résistances végétales quantitatives est modulée en situation d'infections multiples. Effectivement, les programmes de sélection variétale ciblent le plus souvent un seul agent pathogène alors que les variétés seront ensuite confrontées au champ à un cortège d'agents pathogènes aériens et telluriques. Nos premiers résultats semblent montrer que les résistances ciblant le nématode *G. pallida* et l'oomycète *P. infestans* sont plus fortes lorsque les plantes sont co-infectées par le PVY ou *Rhizoctonia solani* (Fig. 47).



**Figure 47** : Nombre de kystes et de larves par kyste produits sur la variété Iledher, résistante à *G. pallida*, en présence ou non des co-infectants *R. solani* ou PVY (à gauche) et taille des lésion et nombre de spores produits sur la variété Robjin, résistante à *P. infestans*, en présence ou non des co-infectants *R. solani* ou PVY (à droite).

Nous réfléchissons actuellement à la possibilité de monter un projet afin de tester la généricité de ce résultat (différentes variétés et différents isolats (ou populations) d'agents pathogènes ciblés ou non (co-infectants) par les résistances), d'évaluer l'incidence du positionnement séquentiel des co-infections sur la modulation de l'efficacité des résistances et d'aborder les mécanismes fonctionnels sous-jacents en ajoutant un volet sur l'activation des voies de défense de la plante.

Sur le **biocontrôle**, le projet BIODERA et la thèse de Camille Gautier sont déjà bien engagés et vont se poursuivre en 2020. Les attentes par rapport à ce projet sont de plus en plus fortes car les derniers nématicides chimiques efficaces (type 1,3 dichloropropène), qui étaient interdits au niveau européen mais utilisés sur dérogations, sont depuis 2018 strictement interdits en France (le ministère de l'agriculture n'ayant pas renouvelé les dérogations), ce qui laisse certaines filières avec peu de solutions pour lutter efficacement contre les nématodes phytoparasites.

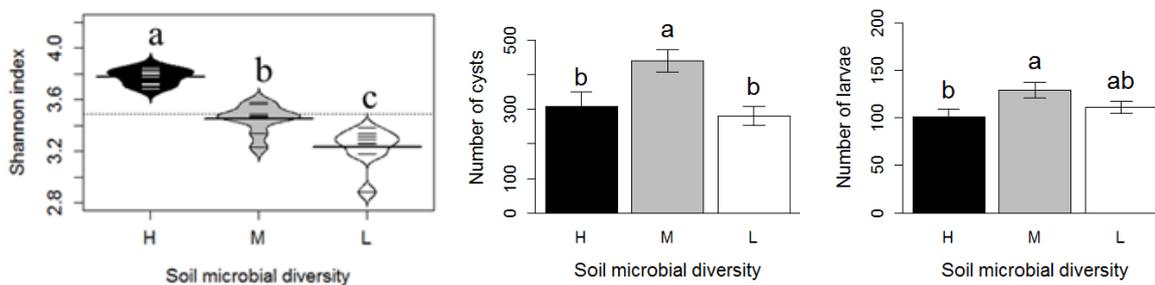
Avec l'objectif d'identifier les molécules impliquées dans l'éclosion, les exsudats retenus vont être fractionnés et nous ferons des tests d'éclosion *in vitro* sur les différentes fractions. Nous menons parallèlement, en interaction avec le CMI du groupe Roullier, une étude de métabolomique visant à comparer les métabolites présents dans des exsudats présentant des capacités contrastées à faire éclore les nématodes. Certains facteurs d'éclosion ont déjà été identifiés, comme la glycinoclepin A (Fukuzawa et al 1985) qui est impliquée dans l'éclosion d'*Heterodera glycines*, le nématode à kyste du soja, ou la solanoeclepin A (Mulder et al 1996, Sckenk et al 1999) qui est impliquée dans l'éclosion de *G. pallida* et *G. rostochiensis*. La synthèse chimique de ces molécules, qui sont des triterpénoïdes, étant très complexe (Tanino et al 2011, Liu et al 2017) et par conséquent très onéreuse, leur commercialisation sous forme d'un produit de biocontrôle n'est pas envisageable, d'où la nécessité d'identifier d'autres molécules impliquées dans l'éclosion des nématodes à kyste. Les tests en conditions contrôlées vont également se poursuivre et des essais au champ sont prévus lors des deux dernières années du projet. Dans le cadre de la thèse de Camille Gautier, les confrontations des exsudats racinaires aux représentants de la diversité génétique des trois espèces de nématodes sont actuellement en cours. Nous souhaitons également déterminer si les espèces de nématodes appartenant au genre *Globodera* ont perdu ou acquis la capacité à répondre aux exsudats (et donc à éclore) et à se multiplier sur des Solanacées cultivées. Six espèces de *Globodera* seront testées (*G. pallida* péruvien, *G. pallida* chilien, *G. mexicana*, *G. ellingtonae*, *G. rostochiensis* et *G. tabacum*) face à sept espèces de Solanacées appartenant ou non à leur gamme d'hôte (pomme de terre, tomate, aubergine, piment, physalis, tabac et pétunia). Et sur l'effet du microbiote du sol, nous tacherons de clôturer l'analyse de données et de valoriser les résultats issus des deux stages de M2.

Mes perspectives à plus long terme sur le volet biocontrôle seront d'étudier l'adaptation des nématodes aux nouvelles solutions de biocontrôle issues de BIODERA. Les produits nématicides (même issus de substances naturelles) peuvent imposer une forte pression de sélection sur les populations de nématodes. En revanche, nous faisons l'hypothèse que l'utilisation d'exsudats provoquant l'éclosion suicide a un potentiel de durabilité supérieur puisque les individus sélectionnés par cette méthode de lutte ne devraient pas répondre (éclore) non plus à des exsudats produits par la plante hôte.

Le dialogue chimique entre la plante et le nématode n'était pas une priorité dans les recherches menées par notre équipe. Mais notre implication dans le projet BIODERA nous ouvre un champs thématique nouveau : **l'écologie chimique dans le sol**. Nous envisageons désormais le recrutement de compétences en chimie et en écologie afin de générer des connaissances pour mieux comprendre le dialogue chimique qui s'établit entre la plante et le nématode lors de l'activation de l'éclosion, puis lors de la migration vers les racines (attraction des larves). Nous souhaitons aussi explorer les covariables qui peuvent modifier la qualité de ce dialogue chimique : en plus de la prise en compte de la diversité génétique intra-spécifique côté

nématode, les covariables candidates sont le microbiotes du sol et la présence de co-infectants telluriques ou aériens sur la plante.

Effectivement, les exsudats racinaires, qui représentent une part importante du carbone photosynthétique fixé par la plante (Hinsinger et al 2006, Badri & Vivanco 2009), sont impliqués dans de nombreuses interactions positives (e.g. sélection de micro-organismes favorisant la nutrition, la croissance ou la défense des plantes) ou négatives (e.g. activation et attraction d'agents pathogènes) avec les organismes présents dans la rhizosphère (Mendes et al 2013, Vandenkoornhuysse et al 2015, van Dam & Bouwmeester 2016). Dans le cadre de BIODERA, nos premières expérimentations n'ont pas permis de mettre en évidence un effet du microbiote sur l'éclosion de *G. pallida*. Mais dans le cadre d'un projet regroupant des collègues de l'unité spécialistes du microbiote et spécialistes de différents agents pathogènes du colza (*Plasmodiophora brassicae*, *Leptosphaeria maculans*, *Myzus persicae* et *Heterodera schachtii*), nous avons montré que la diversité du microbiote a un effet sur la multiplication d'*H. schachtii*. Pour ce faire, une suspension de sol a été diluée et trois niveaux de dilution ont été inoculés à une matrice de sol stérile (Lachaise et al 2017, Ourry et al 2018). Après recolonisation, nous avons comparé la multiplication de *H. schachtii* sur colza dans ces sols contenant trois niveaux distincts de diversité en microbiote, et les résultats montrent que le nombre de kystes et le nombre de larves par kyste est maximal pour le niveau de diversité intermédiaire (Fig. 48). Nous souhaitons maintenant élucider les mécanismes à l'origine de la modulation de l'interaction colza / *H. schachtii* par le microbiote du sol et identifier les acteurs clés des communautés microbiennes impliqués dans les phénotypes observés.

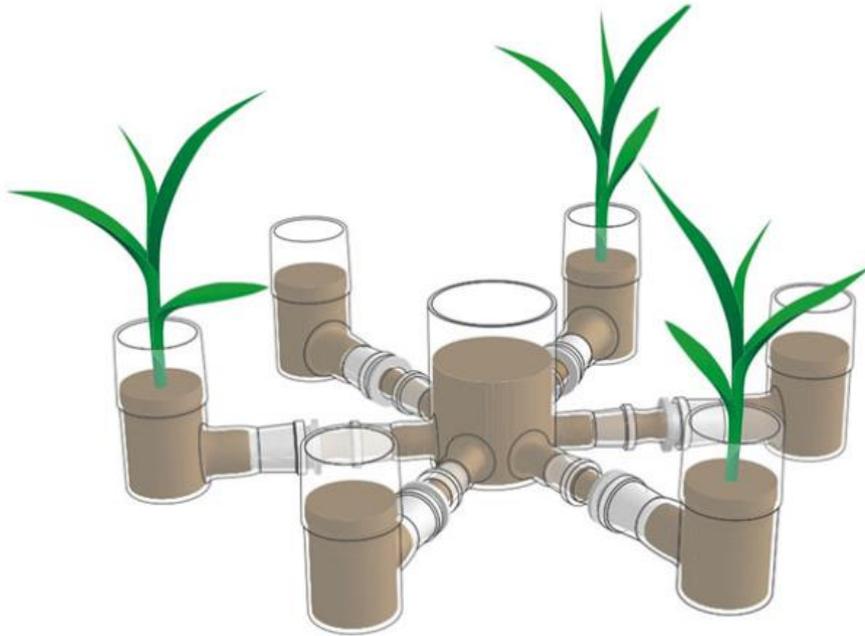


**Figure 48 :** Le graphique de gauche montre que les trois modalités de sol recolonisé présentent des niveaux de diversité bactérienne forte (H), moyenne (M) et faible (L), et les graphiques de droite montrent le nombre de kystes et le nombre de larves par kyste issus d'un cycle de multiplication d'*H. schachtii* sur colza cultivé dans ces trois sols.

Et pour les co-infectants, nous pouvons par exemple citer une étude récente qui montre que des exsudats produits par des pommes de terre attaquées par le puceron *Myzus persicae* réduisent l'éclosion de *G. pallida*, par rapport à des exsudats produits par des pommes de terre non attaquées (Hoysted et al 2018).

L'étude du dialogue chimique qui s'établit entre la plante et le nématode va nécessiter le développement combiné i) d'approches de métabolomique permettant d'identifier le plus finement possible les molécules ou famille de molécules impliquées, via des analyses non-ciblées, mais aussi via des stratégies de fractionnement et de purification (des outils puissants sont désormais disponibles pour analyser les exsudats racinaires, que les cibles étudiées soient volatiles [GC-MS] ou non [LC-QTOF-MS]), et ii) de dispositifs expérimentaux de biologie

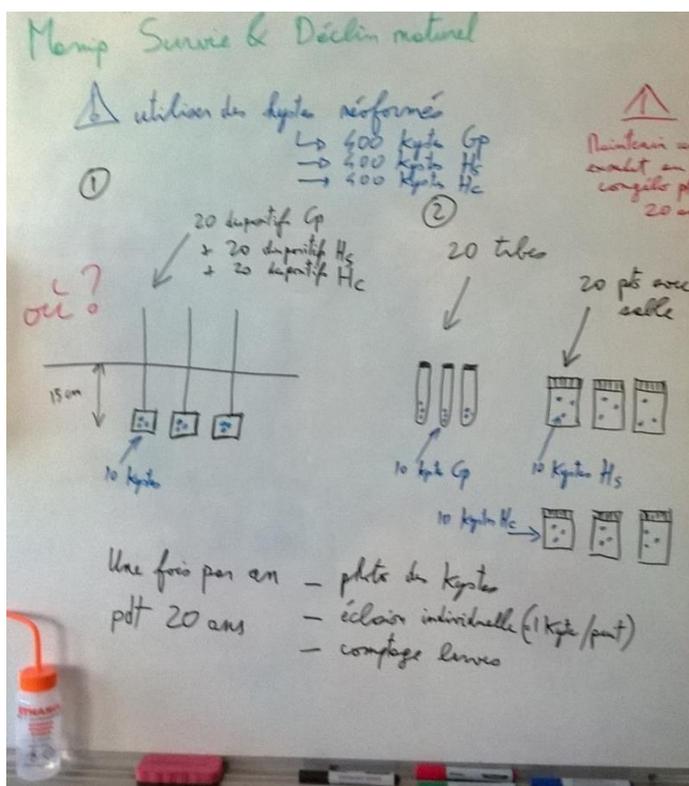
(éclosion) et d'olfactométrie (e.g. Fig. 49) / chimiotactisme (attraction) dans des environnements simplifiés ou complexes, permettant de valider l'effet des molécules candidates, et d'y associer l'effet des covariables microbiote et co-infections.



**Figure 49** : Exemple d'un dispositif d'olfactométrie dans un environnement complexe (le sol) qui a été utilisé pour étudier le rôle des composés volatiles dans l'attraction de nématodes entomopathogènes (illustration issue de Turlings et al 2012).

Les nématodes à kyste ont un cycle qui présente, comme *P. infestans* ([P4]) et de très nombreux agents phytopathogènes, une alternance entre phase épidémique et **phase de survie**. Nous avons considéré la phase de survie chez *H. schachtii* dans une étude récente visant à tester l'impact de la température sur plusieurs traits d'histoire de vie du nématode : éclosion à différentes températures, multiplication à différentes températures et éclosion suite à une période de survie de deux mois à différentes températures ([P39]).

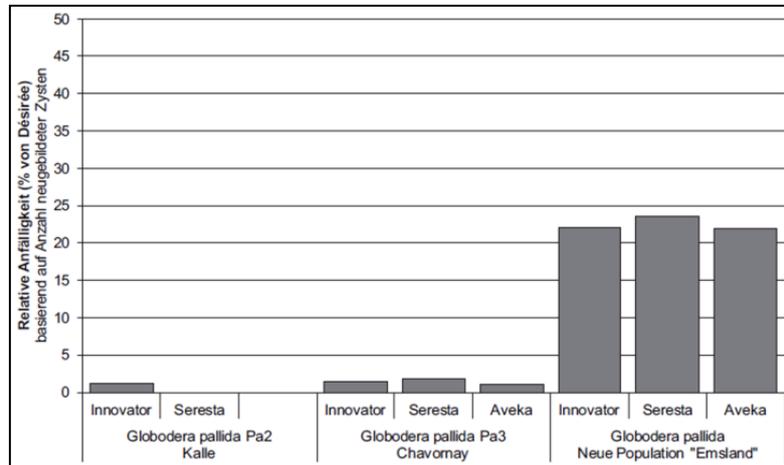
Mais j'avais envie d'aller plus loin et j'ai eu l'idée d'une expérimentation sur le long terme en écoutant à la radio la chronique matinale de Mathieu Vidard (France-Inter). Il présentait une expérience mise en place par des chercheurs écossais, américains et allemands dont l'objectif est de tester les limites de la résistance microbienne ; expérience qui va durer 500 ans et qui consiste simplement à conserver des spores de la bactérie *Bacillus subtilis* (Ulrich et al 2018). Et en arrivant dans mon bureau, j'ai aussitôt schématisé une expérimentation sur le long terme qui vise à étudier la survie pendant 20 ans, et donc à mesurer le déclin naturel, de trois espèces de nématodes à kyste, *G. pallida*, *H. schachtii* et *H. carotae* ; l'idée étant aussi de comparer la survie dans le sol avec la survie au laboratoire, dans les conditions que nous utilisons pour maintenir nos populations (Fig. 50).



**Figure 50** : Schéma de l'expérimentation visant à étudier sur 20 ans la survie des nématodes à kyste.

Avant la mise en place de ce type d'expérimentation, des échanges et réflexions sont encore nécessaires pour optimiser l'instrumentation de l'essai en capteurs météorologiques et éventuellement agréger d'autres groupes qui pourraient utiliser le dispositif pour étudier la survie d'autres agents pathogènes et/ou suivre l'évolution du microbiote du sol sur le long terme. Ces données sur le déclin naturel des nématodes à kyste seront à terme importantes pour paramétrer des modèles de dynamique des populations. L'avantage, par rapport à l'expérimentation de Ulrich et al (2018), c'est que j'ai une chance d'être présent à la fin de l'expérimentation.

Concernant l'**adaptation aux résistances**, le contexte a également changé puisque des populations virulentes de *G. pallida* ont été récemment détectées en Europe : d'abord en Allemagne en 2014 (Fig. 51, Niere et al 2014) puis aux Pays-Bas (communication personnelle A. Goverse, J. Helder et G. Smant). Et comme toutes les variétés européennes résistantes à *G. pallida* possèdent le même QTL majeur de résistance (*GpaV<sub>vrn</sub>* issu de *S. vernei*), aucune variété n'est disponible pour contrôler ces nouvelles populations virulentes.



**Figure 51** : Première description d'une population européenne de *G. pallida* virulente face à la résistance conférée aux trois variétés de pomme de terre (Innovator, Seresta et Aveka) par le QTL majeur de résistance *GpaV<sub>vrn</sub>*. Les populations de référence Kalle et Chavornay sont bien contrôlées alors que la population Emsland produit tout de même 25% du nombre de kystes produits sur la variété sensible Désirée (illustration issue de Niere et al 2014).

Deux autres sources de résistance face à *G. pallida* sont travaillées par les généticiens de la pomme de terre de l'unité : *S. sparsipilum* et *S. spegazzinii*. Comme les évolutions expérimentales de *G. pallida* doivent être anticipées de plusieurs années, nous avons, Sylvain Fournet et moi-même, initié dès le printemps 2013 l'évolution de deux populations de *G. pallida* (avec plusieurs répétitions indépendantes) sur 1) des génotypes de pomme de terre possédant le QTL de résistance *GpaV<sub>spl</sub>* (*S. sparsipilum*), l'association *GpaV<sub>spl</sub>* et *GpaXI<sub>spl</sub>*, *GpaXI<sub>spl</sub>* seul, aucun QTL mais le même fond génétique, 2) des génotypes possédant le QTL *GpaV<sub>spg</sub>* (*S. spegazzinii*), l'association *GpaV<sub>spg</sub>*, *GpaIX<sub>spg</sub>* et *GpaXII<sub>spg</sub>* et 3) la variété sensible Désirée. Nous programmons d'exploiter ces lignées issues d'évolution expérimentale à partir de fin 2020, c'est-à-dire suite à huit générations successives.

Au niveau national, notre projet Casdar GECONEM a démarré début 2019 pour une durée de 42 mois. Il implique également l'UMR INRA SAD-APT, l'ANSES, la DGAL, la FN3PT, Arvalis, l'ACVNPT et la Coopérative de Noirmoutier. Les objectifs de ce projet sont 1) de caractériser les foyers de *G. pallida* détectés sur le territoire national (i.e. connaître leur degré de virulence), 2) de valider le matériel génétique à même de contrôler les populations qui contournent la source de résistance actuellement exploitée, et 3) d'analyser les stratégies individuelles et collectives des acteurs de la filière pomme de terre et d'établir collectivement un mode de gestion durable des résistances disponibles.

Au niveau européen, le projet EFSA PALADAPT, qui est coordonné par mon collègue Eric Grenier et qui implique le laboratoire de nématologie de l'université de Wageningen (Pays-Bas) et le Julius Kühn Institute (Quedlinburg, Allemagne), se terminera début 2020. Ce projet avait pour but d'accroître nos capacités en terme d'évaluation des risques au niveau européen via du transfert de connaissances entre des partenaires ayant des ressources (marqueurs moléculaires, données génomiques, populations de nématodes) et des expertises (bioinformatique, analyses de génétique/génomique des populations, tests phénotypiques) complémentaires. Nous avons par exemple participé à un workshop, en Mars 2019 à Wageningen, qui avait pour but d'échanger sur les méthodes de phénotypage in vitro du niveau de virulence des populations. Nous utilisons actuellement le nouvel assemblage du génome de *G. pallida* (fourni par J. Helder et constitué de 163 scaffolds) et les reads issus du poolseq effectué lors de la thèse de Delphine Eoche-Bosy pour réaliser un nouveau genome scan. Et toujours dans le cadre de ce projet, nous génotypons des populations européennes de *G. pallida* virulentes et avirulentes afin de déterminer 1) si les nouvelles populations virulentes se sont adaptées localement ou si elles sont issues d'un nouvel événement d'introduction depuis l'Amérique du Sud (génotypage de quelques marqueurs SNPs) et 2) le nombre d'évènements d'adaptation distincts (génotypage microsatellites).

Et pour faire suite à ce projet, qui est la première étape d'un plan de bataille européen plus vaste qui vise à contrer l'émergence des populations virulentes de *G. pallida*, nous avons participé au montage d'un projet H2020, NEM-EMERGE, impliquant 24 partenaires de 10 pays et coordonné par nos collaborateurs néerlandais. Ce projet n'a malheureusement pas passé la seconde étape des sélections, mais nous comptons bien re-soumettre à un AAP le work-package que j'avais pris en charge et qui visait à : 1) collecter des populations virulentes et avirulentes et identifier le nombre d'évènements d'adaptation distincts, 2) identifier des SNP liés aux facteurs de virulence (séquençage complet et capture d'effecteurs), 3) développer un outil moléculaire de détection des virulents, 4) caractériser les gènes impliqués dans la virulence, 5) suivre la fréquence des allèles de virulence dans des populations artificielles et naturelles et développer des modèles de prolifération des populations virulentes, 6) intégrer ces informations dans les systèmes d'épidémiologie-surveillance et d'aide à la décision, et 7) identifier des résistances capables de contrôler les populations virulentes. Mes perspectives sur le volet adaptation aux résistances seront donc d'utiliser des populations virulentes européennes pour valider les SNPs identifiés sur des lignées issues d'évolution expérimentale ([P36]) et de développer un outil moléculaire qui permettra de suivre la fréquence des allèles de virulence dans les populations de *G. pallida*. J'envisage d'utiliser cet outil sur des populations naturelles, mais aussi sur des populations artificielles (avec un pourcentage initial d'allèle de virulence connu) que nous soumettrons à différentes stratégies de gestion des résistances, stratégies combinant différents moyens de lutte (biocontrôle, travail du sol, ...).

Les producteurs de carottes n'ont, depuis le retrait du 1,3 dichloropropène en juin 2018, pas vraiment de solutions efficaces pour lutter contre *H. carotae*. Les produits de biocontrôle ne sont pas encore disponibles et il n'y a pas de variété de carotte résistante. Néanmoins, Vilmorin-Mikado travaille activement sur le développement d'une nouvelle variété 'assainissante', c'est-à-dire une variété qui pourrait être utilisée comme plante de service. Sélectionnée à partir d'un criblage de plus de 3700 plantes sauvages, cette variété n'est pas une carotte de consommation, elle est blanche et présente un système racinaire très important, mais son implantation permet

de réduire fortement les populations d'*H. carotae*. Deux années d'expérimentation sont encore nécessaires pour préciser l'itinéraire technique adapté à son utilisation. Nous sommes actuellement en contact avec L. Barrot, sélectionneuse chez Vilmorin-Mikado, et envisageons de monter un projet de recherche afin d'étudier la durabilité de cette résistance. L'efficacité spatiale pourrait être anticipée en confrontant cette variété à la diversité génétique d'*H. carotae* ([P42]), et l'efficacité temporelle, i.e. la durabilité, en mettant en place une expérimentation d'évolution expérimentale, sur deux ou trois ans seulement puisque cette espèce réalise jusqu'à quatre générations par saison culturale (Subbotin et al 2010).

A plus long terme, j'aimerais aussi m'intéresser aux conséquences de la consanguinité et de la polyandrie sur la capacité d'adaptation des nématodes à kyste.

Nous avons vu que la consanguinité peut éventuellement favoriser l'adaptation aux résistances, en rendant homozygote les loci de virulence ([P26]), mais l'homozygotie peut aussi et surtout avoir un effet négatif sur la fitness (dépression de consanguinité). La dépression de consanguinité est principalement due au fait qu'à l'état homozygote, l'expression d'allèles délétères récessifs devient possible (Carr & Dudash 2003), l'intensité des effets délétères étant variable. Chez la drosophile par exemple, la dépression de consanguinité résulte pour moitié d'allèles létaux, qui sont rares, et pour moitié d'allèles faiblement délétères, qui sont beaucoup plus fréquents (Charlesworth & Charlesworth 1987). Une méta-analyse, réalisée sur des espèces animales et végétales, a montré qu'une augmentation de 10% du coefficient de consanguinité peut conduire à une diminution de 5 à 25% de fitness (Crnokrak & Roff 1999). En réalisant des croisements contrôlés au laboratoire (e.g. Hoolahan et al 2011), nous pourrions comparer i) la proportion d'œufs morts (qui n'éclosent pas) au sein de kystes issus ou non de croisements consanguins et ii) la capacité d'adaptation des populations issues de ces deux types de croisement.

Nous savons depuis longtemps que chez les nématodes à kyste, les femelles peuvent être fécondées par plusieurs mâles (Green et al 1970, Triantaphyllou & Esbenshade 1990), mais j'aimerais maintenant quantifier la proportion de croisements polyandriques dans des populations naturelles et aussi comparer des populations issues de femelles fécondées par un ou plusieurs mâles (toujours en réalisant des croisements contrôlés au laboratoire) en terme de capacité d'adaptation. Effectivement, la polyandrie peut être associée à des bénéfices car elle permet de diversifier les génotypes dans la descendance, ce qui peut être avantageux, surtout dans des environnements hautement variables (Williams 1975). Cette hypothèse a été supportée chez des insectes où la diversité génétique augmenterait la résistance globale aux pathogènes (e.g. Bear & Schmid-Hempel 1999). De même, il a été montré chez l'espèce de charançon *Callosobruchus maculatus* que des populations issues de femelles fécondées par deux mâles sont plus performantes que des populations issues de femelles fécondées par un seul mâle (Power & Holman 2014). L'accouplement avec plusieurs mâles peut aussi permettre de promouvoir la compétition spermatique, ou compétition entre éjaculats (Parker 1998), ce qui peut induire la production de descendants plus performants si le sperme le plus compétitif est aussi celui produisant des descendants plus performants (Madsen et al 1992). Nous pourrions d'ailleurs, en génotypant des larves issues de femelles mono- et polyandriques, quantifier la contribution des différents mâles à la descendance. Les spermatozoïdes des différents mâles étant stockés dans une spermathèque au sein de la femelle, on peut se demander si la femelle sélectionne les spermatozoïdes qui féconderont ses ovules. Des mécanismes de retrait du

sperme rival ont même été mis en évidence chez des espèces de vertébrés (Waage 1979, Davies 1992) ou d'invertébrés (Wada et al 2005, Takami 2007), et ont pour finalité de permettre au dernier mâle à s'être accouplé avec la femelle de féconder le plus grand nombre d'œufs possible. Quoi qu'il en soit, la polyandrie joue peut-être un rôle important lors du contournement des résistances végétales par les nématodes à kyste. Par exemple, comme la résistance à *G. pallida* conférée par *GpaV<sub>vm</sub>* masculinise les populations, les mâles sont plus nombreux lorsque la résistance est efficace, ce qui doit favoriser la polyandrie. Démontrer le rôle de la polyandrie sur l'adaptation aux résistances pourrait donc permettre d'orienter la sélection variétale vers des résistances qui ont un mode d'action autre que la masculinisation (blocage de la pénétration des larves dans les racines par exemple).

## Motivations à obtenir l'HDR

Il est indiqué dans l'article 1 de l'arrêté du 23 novembre 1988 relatif à l'habilitation à diriger des recherches que « *l'habilitation à diriger des recherches sanctionne la reconnaissance du haut niveau scientifique du candidat, du caractère original de sa démarche dans un domaine de la science, de son aptitude à maîtriser une stratégie de recherche dans un domaine scientifique ou technologique suffisamment large et de sa capacité à encadrer de jeunes chercheurs* ». J'espère modestement avoir acquis, de par les projets de recherche que j'ai menés et les co-encadrements de doctorants que j'ai réalisés, les compétences pour prétendre à l'obtention du diplôme d'HDR.

Je pense avoir le recul nécessaire pour proposer puis accompagner des doctorants sur des sujets de thèse équilibrés, c'est-à-dire suffisamment balisé pour assurer la faisabilité du projet et en même temps suffisamment ouvert pour stimuler la créativité et la prise d'initiative des futurs docteurs. Pour préparer un bon sujet de thèse, il y a souvent des expérimentations à mener en amont, et ceci est particulièrement vrai en nématologie car certaines espèces ne réalisent qu'une génération par an. Les deux dernières thèses que j'ai co-encadrées l'illustrent très bien : i) réalisation des évolutions expérimentales avant le démarrage de la thèse de Delphine Eoche-Bosy et ii) développement de marqueurs microsatellites et criblage des exsudats racinaires avant le démarrage de la thèse de Camille Gautier. En terme d'accompagnement, je fais en sorte que les doctorants deviennent de plus en plus autonomes, en les suivant de prêt en début de thèse, et en les insitant dès le départ à faire un maximum de bibliographie, puis en espaçant progressivement nos réunions lors des deux dernières années de thèse. Je pense, et j'espère, que ma vision de la recherche me permet de transmettre aux doctorants le goût du travail en équipe. L'obtention de l'HDR me permettrait d'encadrer seul des doctorants, mais je souhaite continuer à privilégier des co-encadrements. Ce format apporte beaucoup en termes de confrontations constructives de points de vue et laisse aussi la possibilité au doctorant d'échanger, selon les sujets, avec l'un ou l'autre de ses encadrants.

Au niveau de l'unité et plus particulièrement de mon équipe de recherche, l'obtention d'une HDR supplémentaire nous permettra d'accroître nos capacités d'encadrement.

En rédigeant cette dernière page, je tiens à indiquer à tout ceux qui ne se sont pas encore lancé dans l'exercice que la rédaction du rapport d'HDR est en soi un exercice très intéressant qui permet de s'interroger sur notre manière d'effectuer et d'orienter nos travaux de recherches. De plus la formalisation de perspectives permet de provoquer des discussions riches, que ce soit avec nos collègues de travail et, j'en suis sûr, avec les membres du jury lors de la soutenance.

## Références bibliographiques

- Adiba S., Huet M. and Kaltz O. (2010) Experimental evolution of local parasite maladaptation. *Journal of Evolutionary Biology* **23**: 1195-1205.
- Ayme V., Petit-Pierre J., Souche S., Palloix A. and Moury B. (2007) Molecular dissection of the *Potato virus Y* VPg virulence factor reveals complex adaptations to the *pvr2* resistance allelic series in pepper. *Journal of General Virology* **88**: 1594–1601.
- Ayme V., Souche S., Caranta C., Jacquemond M., Chadoeuf J., Palloix A. and Moury B. (2006) Different mutations in the genome-linked protein VPg of *Potato virus Y* confer virulence on the *pvr2<sup>3</sup>* resistance in pepper. *Molecular Plant-Microbe Interaction* **19**: 557-563.
- Badri D.V. and Vivanco J.M. (2009) Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell and Environment* **32**: 666-681.
- Bahri B., Kaltz O., Leconte M., de Vallavieille-Pope C. and Enjalbert J. (2009) Tracking costs of virulence in natural populations of the wheat pathogen, *Puccinia striiformis* f.sp.*tritici*. *BMC Evolutionary Biology* **9**: 26.
- Baranski R., Maksylewicz-Kaul A., Nothnagel T., Cavagnaro P.F., Simon P.W. and Grzebelus, D. (2012) Genetic diversity of carrot (*Daucus carota* L.) cultivars revealed by analysis of SSR loci. *Genetic Resources and Crop Evolution* **59**: 163-170.
- Barbary A., Djian-Caporalino C., Marteu N., Fazari A., Caromel B., Castagnone-Sereno P. and Palloix A. (2016) Plant genetic background increasing the efficiency and durability of major resistance genes to root-knot nematodes can be resolved into a few resistance QTLs. *Frontiers in Plant Science* **7**: 632.
- Barbary A., Palloix A., Fazari A., Marteu N., Castagnone-Sereno P. and Djian-Caporalino C. (2014) The plant genetic background affects the efficiency of the pepper major nematode resistance genes *Me1* and *Me3*. *Theoretical and Applied Genetics* **127**: 499–507.
- Bear B. and Schmid-Hempel P. (1999) Experimental variation in polyandry affects parasite loads and fitness in a bumble-bee. *Nature* **397**: 151-154.
- Beaumont M.A. and Nichols R.A. (1996) Evaluating loci for use in the genetic analysis of population structure. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological sciences* **263**: 1619-26.
- Blacket M.J., Agarwal A., Wainer J., Triska M.D., Renton M. and Edwards J. (2019) Molecular assessment of the introduction and spread of potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, in Victoria, Australia. *Phytopathology* **109**: 659-669.
- Blanquart F., Kaltz O., Nuismer S.L. and Gandon S. (2013) A practical guide to measuring local adaptation. *Ecology Letters* **16**: 1195-1205.
- Böndel K.B., Lainer H., Nosenko T., Mboup M., Tellier A. and Stephan W. (2015) North–south colonization associated with local adaptation of the wild tomato species *Solanum chilense*. *Molecular Biology and Evolution* **32**: 2932–2943.
- Brown J.K.M. (2015) Durable resistance of crops to disease: A Darwinian perspective. *Annual Review of Phytopathology* **53**: 513-539.
- Brun H., Chevre A.M., Fitt B.D.L., Powers S., Besnard A.L., Ermel M., Huteau V., Marquer B., Eber F., Renard M. and Andrivon D. (2010) Quantitative resistance increases the

- durability of qualitative resistance to *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus*. *New Phytologist* **185**: 285–299.
- Bruns E., Carson M. and May G. (2014) The Jack of all trades is master of none: a pathogen's ability to infect a greater number of host genotypes comes at a cost of delayed reproduction. *Evolution* **68**: 2453-2466.
- Bryan G.J., McLean K., Bradshaw J.E., De Jong W.S., Phillips M., Castelli L. and Waugh R. (2002) Mapping QTLs for resistance to the cyst nematode *Globodera pallida* derived from the wild potato species *Solanum vernei*. *Theoretical and Applied Genetics* **105**: 68-77.
- Burdon J.J., Zhan J.S., Barrett L.G., Papaix J. and Thrall P.H. (2016) Addressing the challenges of pathogen evolution on the world's arable crops. *Phytopathology* **106**: 1117-1127.
- Caffier V., Didelot F., Pumo B., Causeur D., Durel C.E. and Parisi L. (2010) Aggressiveness of eight *Venturia inaequalis* isolates virulent or avirulent to the major resistance gene *Rvi6* on a non-*Rvi6* apple cultivar. *Plant Pathology* **59**: 1072-1080.
- Caromel B., Mugniery D., Kerlan M.C., Andrzejewski S., Palloix A., Ellisseche D., Rousselle-Bourgeois F. and Lefebvre V. (2005) Resistance quantitative trait loci originating from *Solanum sparsipilum* act independently on the sex ratio of *Globodera pallida* and together for developing a necrotic reaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **18**: 1186–1194.
- Caromel B., Mugniery D., Lefebvre V., Andrzejewski S., Ellisseche D., Kerlan M.C., Rousselle P. and Rousselle-Bourgeois F. (2003) Mapping QTLs for resistance against *Globodera pallida* (Stone) Pa2/3 in a diploid potato progeny originating from *Solanum spgazzinii*. *Theoretical and Applied Genetics* **106**: 1517-1523.
- Carr D.E. and Dudash M.R. (2003) Recent approaches into the genetic basis of inbreeding depression in plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences* **358**: 1071-1084.
- Castagnone-Sereno P., Bongiovanni M. and Wajnberg E. (2007) Selection and parasite evolution: A reproductive fitness cost associated with virulence in the parthenogenetic nematode *Meloidogyne incognita*. *Evolutionary Ecology* **21**: 259-270.
- Charlesworth D. and Charlesworth B. (1987) Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**: 237-268.
- Charron C., Nicolai M., Gallois J.L., Robaglia C., Moury B., Palloix A. and Caranta C. (2008) Natural variation and functional analyses provide evidence for co-evolution between plant eIF4E and potyviral VPg. *Plant Journal* **54**: 56-68.
- Cooke T.F., Yee M.C., Muzzio M., Sockell A., Bell R., Cornejo O.E., Kelley J.L., Bailliet G., Bravi C.M., Bustamante C.D. and Kenny E.E. (2016) GBStools: a statistical method for estimating allelic dropout in reduced representation sequencing data. *PLoS Genetics* **12**: e1005631.
- Cortesi P., Mazzoleni A., Pizzatti C., and Milgroom M.G. (2005) Genetic similarity of flag shoot and ascospore subpopulations of *Erysiphe necator* in Italy. *Applied Environmental Microbiology* **71**: 7788-7791.
- Cotton J.A., Lilley C.J., Jones L.M., Kikuchi T., Reid A.J., Thorpe P., Tsai I.J., Beasley H., Blok V., Cock P.J.A., Eves-van den Akker S., Holroyd N., Hunt M., Mantelin S., Naghra H., Pain A., Palomares-Rius J.E., Zarowiecki M., Berriman M., Jones J.T. and Urwin P.E.

- (2014) The genome and life-stage specific transcriptomes of *Globodera pallida* elucidate key aspects of plant parasitism by a cyst nematode. *Genome Biology* **15**: R43.
- Crnokrak P. and Roff D.A. (1999) Inbreeding depression in the wild. *Heredity* **83**: 260-270.
- Cruz C.M.V., Bai J.F., Ona I., Leung H., Nelson R.J., Mew T.W. and Leach J.E. (2000) Predicting durability of a disease resistance gene based on an assessment of the fitness loss and epidemiological consequences of avirulence gene mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**: 13500-13505.
- Davies N.B. (1992) *Dunnock Behaviour and Social Evolution*. Oxford University Press, Oxford.
- Day J.P. and Shattock R.C. (1997) Aggressiveness and other factors relating to displacement of population of *Phytophthora infestans* in England and Wales. *European Journal of Plant Pathology* **103**: 379-391.
- Delourme R., Bousset L., Ermel M., Duffe P., Besnard A.L., Marquer B., Fudal I., Linglin J., Chadoeuf J. and Brun H. (2014) Quantitative resistance affects the speed of frequency increase but not the diversity of the virulence alleles overcoming a major resistance gene to *Leptosphaeria maculans* in oilseed rape. *Infection Genetics and Evolution* **27**: 490-499.
- Délye C., Laigret F. and Corio-Costet M.F. (1997) RAPD analysis provides insight into the biology and epidemiology of *Uncinula necator*. *Phytopathology* **87**: 670-677.
- Denver D.R., Dolan P.C., Wilhelm L.J., Sung W., Lucas-Lledo J.I., Howe D.K., Lewis S.C., Okamoto K., Thomas W.K., Lynch M. and Baer C.F. (2009) A genome-wide view of *Caenorhabditis elegans* base-substitution mutation processes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**: 16310-16314.
- Denver D.R., Morris K., Lynch M. and Thomas W.K. (2004) High mutation rate and predominance of insertions in the *Caenorhabditis elegans* nuclear genome. *Nature* **430**: 679-682.
- Der R., Epstein C. and Plotkin J.B. (2012) Dynamics of neutral and selected alleles when the offspring distribution is skewed. *Genetics* **191**: 1331-1344.
- Desbiez C., Gal-On A., Girard M., Wipf-Scheibel C. and Lecoq H. (2003) Increase in *Zucchini yellow mosaic virus* symptom severity in tolerant zucchini cultivars is related to a point mutation in P3 protein and is associated with a loss of relative fitness on susceptible plants. *Phytopathology* **93**: 1478-1484.
- Drake J.W., Charlesworth B., Charlesworth D. and Crow J.F. (1998) Rates of spontaneous mutations. *Genetics* **148**: 1667-1686.
- Elshire R.J., Glaubitz J.C., Sun Q., Poland J.A., Kawamoto K., Buckler E.S. and Mitchell S.E. (2011) A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE* **6**: e19379.
- Evans K. and Stone A.R. (1977) A review of the distribution and biology of the potato cyst-nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Tropical Pest Management* **23**: 178-189.
- Evans K., Franco J. and De Scurrah M.M. (1975) Distribution of species of potato cyst nematodes in South America. *Nematologica* **21**: 365-369.
- Evans K.J., Whisson D.L., Stummer B.E. and Scott E.S. (1997) DNA markers identify variation in Australian populations of *Uncinula necator*. *Mycological Research* **101**: 923-932.

- Excoffier L. and Lischer H.E.L. (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10**: 564-567.
- Feng C., Pettersson M., Lamichhaney S., Rubin C.J., Rafati N., Casini M., Folkvord A. and Andersson L. (2017) Moderate nucleotide diversity in the Atlantic herring is associated with a low mutation rate. *eLIFE* **6**: e23907.
- Ferretti L., Ramos-Onsins S.E. and Pérez-Enciso M. (2013) Population genomics from pool sequencing. *Molecular Ecology* **22**: 5561-5576.
- Flier W.G. and Turkensteen L.J. (1999) Foliar aggressiveness of *Phytophthora infestans* in three potato growing regions in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology* **105**: 381–388.
- Flor H.H. (1971) Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology* **9**: 275-296.
- Fraile A., Pagan I., Anastasio G., Saez E. and Garcia-Arenal F. (2011) Rapid genetic diversification and high fitness penalties associated with pathogenicity evolution in a plant virus. *Molecular Biology and Evolution* **28**: 1425-1437.
- Frankham R. (1995) Effective population size / adult population size ratios in wildlife: a review. *Genetics Research* **66**: 95–107.
- Fraser D.J., Hansen M.M., Stergaard S., Tessier N., Legault M. and Bernatchez L. (2007) Comparative estimation of effective population sizes and temporal gene flow in two contrasting population systems. *Molecular Ecology* **16**: 3866–3889.
- French R. and Strenger D.C. (2005) Population structure within lineages of *Wheat streak mosaic virus* derived from a common founding event exhibits stochastic variation inconsistent with the deterministic quasi-species model. *Virology* **343**: 179-189.
- Fukuzawa A., Furusaki A., Ikura M. and Masamune T. (1985) Glycinoeclepin A, a natural hatching stimulus for the soybean cyst nematode. *Journal of the Chemical Society Chemical Communications* **4**: 222-224.
- Futschik A. and Schlötterer C. (2010) The next generation of molecular markers from massively parallel sequencing of pooled DNA samples. *Genetics* **186**: 207-218.
- Gautier M. (2015) Genome-wide scan for adaptive differentiation and association analysis with population-specific covariables. *Genetics* **201**: 1555-1579.
- Gautier M., Foucaud J., Gharbi K., Cezard T., Galan M., Loiseau A., Thomson M., Pudlo P., Kerdelhue C. and Estoup A. (2013) Estimation of population allele frequencies from next-generation sequencing data: pool-versus individual-based genotyping. *Molecular Ecology* **22**: 3766-3779.
- Gomez P., Rodriguez-Hernandez A.M., Moury B. and Aranda M.A. (2009) Genetic resistance for the sustainable control of plant virus diseases: breeding, mechanisms and durability. *European Journal of Plant Pathology* **125**: 1-22.
- Gracianne C., Jan P.L., Fournet S., Olivier E., Arnaud J.F., Porte C., Bardou-Valette S., Denis M.C. and Petit E. (2016) Temporal sampling helps unravel the genetic structure of naturally occurring populations of a phytoparasitic nematode. 2. Separating the relative effects of gene flow and genetic drift. *Evolutionary Applications* **9**: 1005-1016.

- Green C.D., Greet D.N. and Jones F.G.W. (1970) The influence of multiple mating on the reproduction and genetics of *Heterodera rostochiensis* and *H. schachtii*. *Nematologica* **16**: 309–326.
- Grenier E., Fournet S., Petit E. and Anthoine G. (2010) A cyst nematode ‘species factory’ called the Andes. *Nematology* **12**: 163–169.
- Grzebelus D., Iorizzo M., Senalik D., Ellison S., Cavagnaro P., Macko-Podgorni A., Heller-Uszynska K., Kilian A., Nothnagel T. and Allender C. (2014) Diversity, genetic mapping, and signatures of domestication in the carrot (*Daucus carota* L.) genome, as revealed by Diversity Arrays Technology (DArT) markers. *Molecular Breeding* **33**: 625–637.
- Haag-Liautard C., Dorris M., Maside X., Macaskill S., Halligan D.L., Charlesworth B and Keightley P.D. (2007) Direct estimation of per nucleotide and genomic deleterious mutation rates in *Drosophila*. *Nature* **445**: 82–85.
- Haas B.J., Kamoun S., Zody M.C., Jiang R.H.Y., Handsaker R.E., Cano L.M., Grabherr M., Kodira C.D., Raffaele S., Torto-Alalibo T., Bozkurt T.O., Ah-Fong A.M.V., Alvarado L., Anderson V.L., Armstrong M.R., Avrova A., Baxter L., Beynon J., Boevink P.C., Bollmann S.R., Bos J.I.B., Bulone V., Cai G.H., Cakir C., Carrington J.C., Chawner M., Conti L., Costanzo S., Ewan R., Fahlgren N., Fischbach M.A., Fugelstad J., Gilroy E.M., Gnerre S., Green P.J., Grenville-Briggs L.J., Griffith J., Grunwald N.J., Horn K., Horner N.R., Hu C.H., Huitema E., Jeong D.H., Jones A.M.E., Jones J.D.G., Jones R.W., Karlsson E.K., Kunjeti S.G., Lamour K., Liu Z.Y., Ma L.J., MacLean D., Chibucos M.C., McDonald H., McWalters J., Meijer H.J.G., Morgan W., Morris P.F., Munro C.A., O’Neill K., Ospina-Giraldo M., Pinzon A., Pritchard L., Ramsahoye B., Ren Q.H., Restrepo S., Roy S., Sadanandom A., Savidor A., Schornack S., Schwartz D.C., Schumann U.D., Schwessinger B., Seyer L., Sharpe T., Silvar C., Song J., Studholme D.J., Sykes S., Thines M., van de Vondervoort P.J.I., Phuntumart V., Wawra S., Weide R., Win J., Young C., Zhou S.G., Fry W., Meyers B.C., van West P., Ristaino J., Govers F., Birch P.R.J., Whisson S.C., Judelson H.S. and Nusbaum C. (2009) Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*. *Nature* **461**: 393–398.
- Haverkort A.J., Boonekamp P.M., Hutten R., Jacobsen E., Lotz L.A.P., Kessel G.J.T., Visser R.G.F. and van der Vossen E.A.G. (2008) Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenic modification. *Potato Research* **51**: 47–57.
- Hinsinger P., Plassard C. and Jaillard B. (2006) Rhizosphere: A new frontier for soil biogeochemistry. *Journal of Geochemical Exploration* **88**: 210–213.
- Hoarau G., Boon E., Jongma D.N., Ferber S., Palsson J., der Veer H.W.V., Rijnsdorp A.D., Stam W.T. and Olsen J.L. (2005) Low effective population size and evidence for inbreeding in an overexploited flatfish, plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Proceedings of the Royal Society of London B - Biological Science* **272**: 497–503.
- Hoolahan A.H., Block V.C., Gibson T. and Downton M. (2011) Paternal leakage of mitochondrial DNA in experimental crosses of populations of the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Genetica* **139**: 1509–1519.
- Hoysted G.A., Bell C.A., Lilley C.J. and Urwin P.E. (2018) Aphid colonization affects potato root exudate composition and the hatching of soil borne pathogen. *Frontiers in Plant Science* **9**: 1278.

- Huang Y.J., Balesdent M.H., Li Z.Q., Evans N., Rouxel T. and Fitt B.D.L. (2010) Fitness cost of virulence differs between the *AvrLm1* and *AvrLm4* loci in *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker of oilseed rape). *European Journal of Plant Pathology* **126**: 279-291.
- Iorizzo M., Senalik D.A., Ellison S.L., Grzebelus D., Cavagnaro P.F., Allender C., Brunet J., Spooner D.M., Van Deynze A. and Simon P.W. (2013) Genetic structure and domestication of carrot (*Daucus carota* subsp. *sativus*) (Apiaceae). *American Journal of Botany* **100**: 930-938.
- Ishibashi K., Mawatari N., Miyashita S., Kishino H., Meshi T. and Ishikawa M. (2012) Coevolution and hierarchical interactions of *Tomato mosaic virus* and the resistance gene *Tm-1*. *PLoS Pathogens* **8**: e1002975
- Jan P.L., Gracianne C., Fournet S., Olivier E., Arnaud J.F., Porte C., Bardou-Valette S., Denis M.C. and Petit E.J. (2016) Temporal sampling helps unravel the genetic structure of naturally occurring populations of a phytoparasitic nematode. 1 Insights from the estimation of effective population sizes. *Evolutionary Applications* **9**: 489-501.
- Jenner C.E., Wang X.W., Ponz F. and Walsh J.A. (2002) A fitness cost for *Turnip mosaic virus* to overcome host resistance. *Virus Research* **86**: 1-6.
- Johnson C.S., Way J. and Barker K.R. (2005) Nematode parasites of tobacco. In: Luc M., Sikora R.A. and Bridge J. (Eds.), *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, second ed.* CABI Publishing, Cambridge, pp. 675–708.
- Johnson R. (1984) A critical analysis of durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* **22**: 309-330.
- Jones J.D.G. and Dangl J.L. (2006) The plant immune system. *Nature* **444**: 323-329.
- Jorde P.E. and Ryman N. (1995) Temporal allele frequency change and estimation of effective size in populations with overlapping generations. *Genetics* **139**: 1077-1090.
- Kauer M.O., Dieringer D. and Schlötterer C. (2003) A microsatellite variability screen for positive selection associated with the “Out of Africa” habitat expansion of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **165**: 1137-48.
- Kawecki T.J. and Ebert D. (2004) Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* **7**: 1225-1241.
- Khatabi B., Wen R.H. and Hajimorad M.R. (2013) Fitness penalty in susceptible host is associated with virulence of *Soybean mosaic virus* on *Rsv1*-genotype soybean: a consequence of perturbation of HC-Pro and not P3. *Molecular Plant Pathology* **14**: 885-897.
- Kim J., Ni G., Kim T., Chun J.Y., Kern E.M.A. and Park J.K. (2019) Phylogeography of the highly invasive sugar beet nematode, *Heterodera schachtii* (Schmidt, 1871), based on microsatellites. *Evolutionary Applications* **12**: 324-336.
- Kimura M. (1962) On the probability of fixation of mutant genes in a population. *Genetics* **47**: 713-719.
- Kondrashov A.S. and Crow J.F. (1993) A molecular approach to estimating the human deleterious mutation rate. *Human Mutation* **2**: 229-234.
- Lachaise T., Ourry M., Lebreton L., Guillerm-Erckelboudt A.Y., Linglin J., Paty C., Chaminade V., Marnet N., Aubert J., Poinso D., Cortesero A.M. and Mougél C. (2017). Can soil microbial diversity influence plant metabolites and life history traits of a rhizophagous

- insect? A demonstration in oilseed rape: plant microbiote influence insect interactions. *Insect Science* **24**: 1045–1056.
- Lang G.I. and Murray A.W. (2008) Estimating the per-base-pair mutation rate in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* **178**: 67-82.
- Leach J.E., Cruz C.M.V., Bai J.F. and Leung H. (2001) Pathogen fitness penalty as a predictor of durability of disease resistance genes. *Annual Review of Phytopathology* **39**: 187-224.
- Liu G., Han J.C. and Li C.C. (2017) Synthetic study towards the total synthesis of solanoeclepin A. *Tetrahedron* **73**: 3629-3635.
- Lodge D.M. (1993) Biological invasions: lessons for ecology. *Trends in Ecology and Evolution* **8**: 133-137.
- Lynch M., Sung W., Morris K., Coffey N., Landry C.R., Dopman E.B., Dickinson W.J., Okamoto K., Kulkarni S., Hartl D.L. and Thomas W.K. (2008) A genome-wide view of the spectrum of spontaneous mutations in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**: 9272-9277.
- MacArthur R.H. and Wilson E.O. (1967) *The Theory of Island Biogeography*. Princeton University Press (2001 reprint), Princeton, NJ.
- Madsen T., Shine R., Loman J. and Hakansson T. (1992) Why do female adders copulate so frequently? *Nature* **355**: 440-441.
- Masel J. (2011) Genetic drift. *Current Biology* **21**: R837-R838.
- Maynard-Smith J. and Haigh J. (1974) Hitch-hiking effect of a favorable gene. *Genetics Research* **23**: 23-35.
- McDonald B.A. and Linde C. (2002) Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* **40**: 349-379.
- Mendes R., Garbeva P. and Raaijmakers J.M. (2013) The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews* **37**: 634-663.
- Miazzi M., Hajjeh H. and Faretra F. (2003) Observations on the population biology of the grape powdery mildew fungus *Uncinula necator*. *Journal of Plant Pathology* **85**: 123-129.
- Milgroom M.G. (2001) The synthesis of genetics and epidemiology: Contributions of population biology in plant pathology. *Journal of Plant Pathology* **83**: 57-62.
- Monsion B., Froissart R., Michalakakis Y. and Blanc S. (2008) Large bottleneck size in *Cauliflower mosaic virus* populations during host plant colonization. *PLoS Pathogens* **4**: e1000174.
- Mulder J.G., Diepenhorst P., Plieger P. and Brüggemann-Rotgans I.E.M. (1996) Hatching agent for the potato cyst nematode. United States Patent WO93/02083.
- Niere B., Krüssel S. and Osmers K. (2014) Auftreten einer außergewöhnlich virulenten Population der Kartoffelzystennematoden. *Journal für Kulturpflanzen* **66**: 426-427.
- Nuñez Y., Gallego J., Ponz F. and Raposo R. (2006) Analysis of population structure of *Erysiphe necator* using AFLP markers. *Plant Pathology* **55**: 650-656.
- Ourry M., Lebreton L., Chaminade V., Guillerm-Erckelboudt A.Y., Herve M., Linglin J., Marnet N., Ourry A., Paty C., Poinot D., Cortesero A.M. and Mougél C. (2018) Influence of belowground herbivory on the dynamics of root and rhizosphere microbial communities. *Frontiers in Ecology and Evolution* **6**: 91.

- Overall A.D.J. and Nichols R.A. (2001) A method for distinguishing consanguinity and population substructure using multilocus genotype data. *Molecular Biology and Evolution* **18**: 2048-2056.
- Palloix A., Ayme V. and Moury B. (2009) Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. *New Phytologist* **183**: 190-199.
- Parker G.A. (1998) Sperm competition and the evolution of ejaculates: towards a theory base. In: Birkhead T.R. and Moller A.P. (Eds.), *Sperm Competition and Sexual Selection*. Academic Press, London, pp. 3-54.
- Péros J.P., Troulet C., Guerriero M., Michel-Romiti C. and Notteghem J.L. (2005) Genetic variation and population structure of the grape powdery mildew fungus, *Erysiphe necator*, in southern France. *European Journal of Plant Pathology* **113**: 407-416.
- Pianka E.R. (1970) On r and K selection. *American Naturalist* **104**: 592-597.
- Picard D. and Plantard O. (2006) What constitutes a population for the plant parasitic nematode *Globodera pallida* in its native area (Peru)? *International Journal for Parasitology* **36**: 115-122.
- Picard D., Plantard O., Scurrah M. and Mugniery D. (2004) Inbreeding and population structure of the potato cyst nematode (*Globodera pallida*) in its native area (Peru). *Molecular Ecology* **13**: 2899-2908.
- Picard D., Sempere T. and Plantard O. (2007) A northward colonisation of the Andes by the potato cyst nematode during geological times suggests multiple host-shifts from wild to cultivated potatoes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **42**: 308-316.
- Plantard O. and Porte C. (2004) Population genetic structure of the sugar beet cyst nematode *Heterodera schachtii*: a gonochoristic and amphimictic species with highly inbred but weakly differentiated populations. *Molecular Ecology* **13**: 33-41.
- Plantard O., Picard D., Valette S., Scurrah M., Grenier E. and Mugniéry D. (2008) Origin and genetic diversity of Western European populations of the potato cyst nematode (*Globodera pallida*) inferred from mitochondrial sequences and microsatellite loci. *Molecular Ecology* **17**: 2208-2218.
- Pollak E. (1983) A new method for estimating the effective population size from allele frequency changes. *Genetics* **104**: 531-548.
- Poulicard N., Pinel-Galzi A., Hebrard E. and Fargette D. (2010) Why *Rice yellow mottle virus*, a rapidly evolving RNA plant virus, is not efficient at breaking *rymv1-2* resistance? *Molecular Plant Pathology* **11**: 145-154.
- Power D.J. and Holman L. (2014) Polyandrous females found fitter populations. *Journal of Evolutionary Biology* **27**: 1948-1955.
- Pudovkin A.I., Zaykin D.V. and Hedgecock D. (1996) On the potential for estimating the effective number of breeders from heterozygote-excess in progeny. *Genetics* **144**: 383-387.
- Rommens C.M. and Kishore G.M. (2000) Exploiting the full potential of disease-resistance genes for agricultural use. *Current Opinion in Biotechnology* **11**: 120-125.
- Roupe van der Voort J.N.A.M., van der Vossen E., Bakker E., Overmars H., van Zandvoort P., Hutten R., Klein Lankhorst R. and Bakker J. (2000) Two additive QTLs conferring

- broad-spectrum resistance in potato to *Globodera pallida* are localized on resistance gene clusters. *Theoretical and Applied Genetics* **101**: 1122-1130.
- Ruyschaert G., Poesen J., Auerswald K., Verstraeten G. and Govers G. (2007a) Soil losses due to potato harvesting at the regional scale in Belgium. *Soil Use and Management* **23**: 156–161.
- Ruyschaert G., Poesen J., Wauters A., Govers G. and Verstraeten G. (2007b) Factors controlling soil loss during sugar beet harvesting at the field plot scale in Belgium. *European Journal of Soil Science* **58**: 1400–1409.
- Sacristán S., Malpica J.M., Fraile A. and García-Arenal F. (2003) Estimation of population bottlenecks during systemic movement of *Tobacco mosaic virus* in tobacco plants. *Journal of Virology* **77**: 9906-9911.
- Schenk H., Driessen R.A.J., de Gelder R., Goubitz K., Nieboer H., Bruggemann-Rotgans I.E.M. and Diepenhorst P. (1999) Elucidation of the structure of solanoclepin A, a natural hatching factor of potato and tomato cyst nematodes, by single-crystal x-ray diffraction. *Croatica Chemica Acta* **72**: 593-606.
- Schlötterer C. and Dieringer D. (2005) A novel test statistic for the identification of local selective sweeps based on microsatellite gene diversity. In: Nurminsky D. (Ed), *Selective Sweep*. Landes Bioscience, Georgetown, UK, pp. 55-64.
- Schlötterer C., Tobler R., Kofler R. and Nolte V. (2014) Sequencing pools of individuals – mining genome-wide polymorphism data without big funding. *Nature Review Genetics* **15**: 749-763.
- Schneider K.A., Brothers M.E. and Kelly J.D. (1997) Marker-assisted selection to improve drought resistance in common bean. *Crop Science* **37**: 51-60.
- Simon P.W. (2000) Domestication, historical development, and modern breeding of carrot. *Plant Breeding Reviews* **19**: 157-190.
- Spooner D.M. and Castillo R. (1997) Reexamination of series relationships of South American wild potatoes (*Solanaceae: Solanum* sect Petota): Evidence from chloroplast DNA restriction site variation. *American Journal of Botany* **84**: 671-685.
- Spooner D.M., McLean K., Ramsay G., Waugh R. and Bryan G.J. (2005) A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**: 14694–14699.
- Stolarczyk J. and Janick J. (2011) Carrot: history and iconography. *Chronica Horticulturae* **51**: 13-18.
- Stone A.R., Platt H.M. and Khalil L.F. (1983) Three approaches to the status of a species complex, with a revision of some species of *Globodera*. In: Stone A.R., Platt H.M. and Khalil L.F. (Eds.), *Concepts in Nematode Systematics*. Academic Press, London, pp. 221–223.
- Storz J.F. (2005) Using genome scans of DNA polymorphism to infer adaptive population divergence. *Molecular Ecology* **14**: 671-688.
- Subbotin S.A., Mundo-Ocampo M. and Baldwin J.G. (2010) *Systematics of Cyst Nematodes (Nematodes: Heteroderinae), Volume 8, Part B*. Brill, Leiden, The Netherlands.
- Takami Y. (2007) Spermatophore displacement and male fertilization success in the ground beetle *Carabus insulicola*. *Behavioral Ecology* **18**: 628-634.

- Tanino K., Takahashi M., Tomata Y., Tokura H., Uehara T., Narabu T. and Miyashita M. (2011) Total synthesis of solanoeclepin A. *Nature Chemistry* **3**: 484-488.
- Tanksley S.D., Young N.D., Paterson A.H. and Bonierbale M.W. (1989) RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. *Bio-Technology* **7**: 257-264.
- Tellier A. and Brown J.K.M. (2007a) Polymorphism in multilocus host-parasite coevolutionary interactions. *Genetics* **177**: 1777-1790.
- Tellier A. and Brown J.K.M. (2007b) Stability of genetic polymorphism in host-parasite interactions. *Proceedings of the Royal Society of London B - Biological Science* **274**: 809-817.
- Thomas S.R. and Elkinton J.S. (2004) Pathogenicity and virulence. *Journal of Invertebrate Pathology* **85**: 146-151.
- Triantaphyllou A.C. and Esbenshade P.R. (1990) Demonstration of multiple mating in *Heterodera glycines* with biochemical markers. *Journal of Nematology* **22**: 452-456.
- Turlings T.C.J., Hiltbold I. and Rasmann S. (2012) The importance of root-produced volatiles as foraging cues for entomopathogenic nematodes. *Plant and Soil* **358**: 47-56.
- Ulrich N., Nagler K., Laue M., Cockell C.S., Setlow P. and Moeller R. (2018) Experimental studies addressing the longevity of *Bacillus subtilis* spores – The first data from a 500-year experiment. *PLoS ONE* **13**: e0208425.
- van Dam N.M. and Bouwmeester H.J. (2016) Metabolomics in the rhizosphere: tapping into belowground chemical communication. *Trends in Plant Science* **21**: 256-265.
- van der Plank J.E. (1963) *Plant Diseases: Epidemics and Control*. Academic Press, New York, USA.
- Vandenkoornhuyse P., Quaiser A., Duhamel M., Le Van A. and Dufresne A. (2015) The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist* **206**: 1196-1206.
- Vitalis R. (2012) Detsel: an R-package to detect marker loci responding to selection. In: Pompanon F. and Bonin A. (Eds.), *Data Production and Analysis in Population Genomics: Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. Springer Science & Business Media, New York, USA, pp. 277-293.
- Waage J. (1979) Dual function of the damselfly penis: sperm removal and transfer. *Science* **203**: 916-918.
- Wada T., Takegaki T., Mori T. and Natsukari Y. (2005) Sperm displacement behaviour of the cuttlefish *Sepia esculenta* (Cephalopoda: Sepiidae). *Journal of Ethology* **23**: 85-92.
- Wang H.M., Zhao H.H. and Chu D. (2015) Genetic structure analysis of populations of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, from north China. *Nematology* **17**: 591-600.
- Wang J. (2001) A pseudo-likelihood method for estimating effective population size from temporally spaced samples. *Genetical Research* **78**: 243-257.
- Wang X., Ma J., Liu H., Liu R. and Li H. (2018) Development and characterization of EST-derived SSR markers in the cereal cyst nematode *Heterodera avenae*. *European Journal of Plant Pathology* **150**: 105-113.
- Waples R.S. (1989) A generalized approach for estimating effective population size from temporal changes in allele frequency. *Genetics* **121**: 379-391.
- Watson I.A. (1970) Changes in virulence and population shifts in plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* **8**: 209-230.

- Wichmann G. and Bergelson J. (2004) Effector genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* promote transmission and enhance other fitness traits in the field. *Genetics* **166**: 693-706.
- Williams G.C. (1975) *Sex and Evolution*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Wright S. (1931) Evolution in Mendelian populations. *Genetics* **16**: 97-159.
- Zhu Y., Bergland A.O., González J. and Petrov D.A. (2012) Empirical validation of pooled whole genome population re-sequencing in *Drosophila melanogaster*. *PLoS One* **7**: e41901.

## Annexe : Liste des autres types de valorisation

### Articles soumis ou déposés dans une archive ouverte

- Thevenoux R., Folcher L., Esquibet M., Fouville D., **Montarry J.** and Grenier E. (201-) The hidden diversity of the potato cyst nematode *Globodera pallida* in the south of Peru. *Evolutionary Applications* (soumis).
- Esquibet M., Gautier C., Piriou C., Grenier E., Fournet S. and **Montarry J.** (201-) Evidence of strong gene flow among populations of the carrot cyst nematode *Heterodera carotae*. *Plant Pathology* (soumis).
- Mariette N., Mabon R., **Montarry J.**, Corbière R., Marquer B., Androdias A. and Andrivon D. (201-) Local temporal dynamics of *Phytophthora infestans* clones show the coexistence of lineages differing in life history and reproduction strategies. *Plant Pathology* (soumis).
- Kröner A., Mabon R., Corbière R., **Montarry J.** and Andrivon D. (2019) The level of specialization of *Phytophthora infestans* to potato and tomato is a biotrophy-related, stable trait. bioRxiv, doi: <http://dx.doi.org/10.1101/571596>.

### Ouvrage et chapitres d'ouvrage

- Andrivon D., Bardin M., Bertrand C., Brun L., Daire X., Fabre F., Gary C., **Montarry J.**, Nicot P., Reignault P., Tamm L. et Savini I. (2019) Peut-on se passer du cuivre en protection des cultures biologiques ? INRA Editions Quae, 126 p.
- Grenier E. et **Montarry J.** (2018) Génotypage par séquençage : GBS (Genotyping By Sequencing). In D. Tagu, S. Jaubert-Possamai & A. Mereau (Eds.), Principes des techniques de biologie moléculaire et génomique (pp 292-295): INRA Editions Quae.

### Articles de vulgarisation

- Andrivon D., **Montarry J.**, Grenier A. S., Decognet V. et Savini I. (2018) Limiter le cuivre en bio (2ème partie) : Intégrer les leviers dans des systèmes de protection repensés. *Potato Planet* **72**: 48-52.
- Andrivon D., **Montarry J.**, Grenier A.-S., Decognet V. et Savini, I. (2018) Limiter le cuivre en bio (1ère partie) : Alternative pour le mildiou. *Potato Planet* **71**: 40-43.
- Kerlan M.C., Dantec J.P., Renault L., Ruer D., Souchet C., Dantec M.A., Monot F., Quéré J., Caromel B., Chauvin L., **Montarry J.** et Fournet S. (2016) Quelles associations de QTL chez la pomme de terre pour une résistance efficace et durable aux nématodes à kyste *Globodera pallida* ? *Innovation Agronomique* **50**: 87-100.
- Kerlan M.C., **Montarry J.**, Dantec J.P., Renault L., Rouaux C., Le Cointe R. et Fournet S. (2012) Durabilité et stratégie de sélection pour la résistance aux nématodes à kyste chez la pomme de terre. *Le sélectionneur français* **63**: 63-72.
- Kerlan M.C., **Montarry J.** et Fournet S. (2012) Nématode à kystes *Globodera pallida* : Acquis de l'INRA sur la durabilité des sources de résistances. *Potato Planet* **37**: 50-55.
- Blancard D. et **Montarry J.** (2007) Quel est votre diagnostic ? *Phytophthora infestans* sur pomme de terre. *PHM-Revue Horticole* **496**: 45-47.

- Montarry J.**, Corbière R., Glais I. et Andrivon D. (2006) Les souches A2 de l'agent du mildiou *Phytophthora infestans* sont plus « récentes » en France que les A1... Mais sont-elles plus agressives ? *Phytoma – La Défense des Végétaux* **599**: 28-30.
- Andrivon D., Corbière R., **Montarry J.**, Pellé R. et Ellissèche D. (2004) Variétés résistantes et populations de mildiou. *La Pomme de Terre Française* **542**: 23-25.

### Communications orales dans des congrès

- Grenier E., Kiewnick S., Smant G., Fournet S., **Montarry J.**, Holterman M., van de Elsen S., Helder J. and Goverse A. (2019) Monitoring and tackling genetic selection in the potato cyst nematode *Globodera pallida*. ONTA Conference 2019, San José, Costa Rica, 21-25th July 2019.
- Montarry J.**, Petit J.E., Bardou-Valette S., Mabon R., Jan Pierre-Loup, Fournet S. and Grenier E. (2018) Effective population size and implication for durability of plant resistances in the potato cyst nematode *Globodera pallida*. ESN 2018, Ghent, Belgium, 9-13 September 2018.
- Fournet S., Pellan L., Porte C., Piriou C., Grenier E. and **Montarry J.** (2018) Populations of the beet cyst nematode *Heterodera schachtii* exhibit strong differences in their life-history traits across changing thermal conditions. ESN 2018, Ghent, Belgium, 9-13 September 2018.
- Gautier C., Fournet S., Piriou C., Esnault F., Renault L., Nguema-Ona E. and **Montarry J.** (2018) Coevolution for the hatching trait between *G. pallida* populations and *Solanum* species, in Peru. ESN 2018, Ghent, Belgium, 9-13 September 2018.
- Mabon R., Kröner A., **Montarry J.** et Andrivon D. (2018) Spécificité d'hôte vis-à-vis de la pomme de terre et de la tomate chez *Phytophthora infestans*. 12èmes Journées Jean Chevaugéon / Rencontres de Phytopathologie-Mycologie de la SFP. Aussois, France, 16-19 Janvier 2018.
- Fournet S., Eoche-Bosy D., Kerlan M.C., Grenier E. and **Montarry J.** (2017) Phenotypic and genomic modifications associated with *Globodera pallida* adaptation to potato resistances. 20th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Versailles, France, 9-14 July 2017.
- Mariette N., Mabon R., Androdias A., Corbière R., Marquer B., **Montarry J.** and Andrivon D. (2017) Local temporal dynamics of *Phytophthora infestans* clones show the coexistence of lineages differing in life history and reproduction strategies. 20th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Versailles, France, 9-14 July 2017.
- Kerlan M.C., Dantec J.P., Renault L., Quéré J., Dantec M.A., Caromel B., **Montarry J.** and Fournet S. (2017) Which association of QTL to obtain durable resistance to the nematode *Globodera pallida*? 20th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Versailles, France, 9-14 July 2017.
- Montarry J.**, Jan P.L., Gracianne C., Overall A.D.J., Bardou-Valette S., Fournet S., Grenier E. and Petit E.J. (2016) Heterozygote deficits in cyst forming plant-parasitic nematodes. 32nd Symposium of the European Society of Nematologists, Braga, Portugal, 28 August – 1 September 2016.
- Eves-van den Akker S., Laetsch D.R., Thorpe P. Lilley C.J., Danchin E.G.J., Da Rocha M., Rancurel C., Holroyd N.E., Cotton J.A., Szipiternberg A., Grenier E., **Montarry J.**, Mimee B., Duceppe M.O., Boyes I., Marvin J.M.C., Jones L.M., Yusup H.B., Lafond-Lapalme

- J., Esquibet M., Sabeh M., Rott M., Overmars H., Finkers-Tomczak A., Smant G., Koutsovoulos G., Blok V., Mantelin S., Cock P.J.A., Phillips W., Henrissat B., Urwin P.E., Blaxter M. and Jones J.T. (2016) The genome of the yellow potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, reveals insights into the bases of parasitism and virulence. 32nd Symposium of the European Society of Nematologists, Braga, Portugal, 28 August – 1 September 2016.
- Eoche-Bosy D., Esquibet M., Fournet S., Gautier M., Legeai F., Bretaudeau A., Grenier E. and **Montarry J.** (2016) Genome scans on experimentally evolved *Globodera pallida* populations to identify molecular basis of adaptation to potato resistances. 32nd Symposium of the European Society of Nematologists, Braga, Portugal, 28 August – 1 September 2016.
- Mougel C., Cortesero A.M., Fournet S., Gazengel K., Guillerm-Erckelboudt A.Y., Lachaise T., Lebreton L., Linglin J., Manzanares-Dauleux M., **Montarry J.**, Poinot D. and Porte C. (2016) Do soil microbial communities diversity modified plant-bioagressor interactions? 32nd Symposium of the European Society of Nematologists, Braga, Portugal, 28 August – 1 September 2016.
- Eves-van den Akker S., Laetsch D.R., Thorpe P. Lilley C.J., Danchin E.G.J., Da Rocha M., Rancurel C., Holroyd N.E., Cotton J.A., Szitenberg A., Grenier E., **Montarry J.**, Mimee B., Duceppe M.O., Boyes I., Marvin J.M.C., Jones L.M., Yusup H.B., Lafond-Lapalme J., Esquibet M., Sabeh M., Rott M., Overmars H., Finkers-Tomczak A., Smant G., Koutsovoulos G., Blok V., Mantelin S., Cock P.J.A., Phillips W., Henrissat B., Urwin P.E., Blaxter M. and Jones J.T. (2016) The genome of the yellow potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, reveals insights into the bases of parasitism and virulence. Joint Meeting SON/ONTA, Montréal, Canada, 17-22 July 2016.
- Eoche-Bosy D., Esquibet M., Fournet S., Gautier M., Legeai F., Bretaudeau A., Grenier E. and **Montarry J.** (2016) Genome scans on experimentally evolved *Globodera pallida* populations to identify molecular basis of adaptation to *GpaV<sub>vm</sub>* potato resistance. Joint Meeting SON/ONTA, Montréal, Canada, 17-22 July 2016.
- Grenier E., Véronneau P.Y., Lafond-Lapalme J., **Montarry J.**, Fournet S. and Mimee B. (2016) Genetic structure and evolution of potato cyst nematodes populations. Joint Meeting SON/ONTA, Montréal, Canada, 17-22 July 2016.
- Mariette N., Androdias A., Mabon R., Marquer B., Corbière R., **Montarry J.** and Andrivon D. (2015) Is there a local adaptation to temperature in *Phytophthora infestans*? American Phytopathological Society, 2015 Annual Meeting, San Diego, 84P.
- Mariette N., Androdias A., Mabon R., Marquer B., Corbière R., **Montarry J.** and Andrivon D. (2015) Adaptation patterns to temperature in the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*. 15th EuroBlight Workshop, Brasov, Romania, 10-13 May 2015.
- Mariette N., Androdias, A., Mabon R., Marquer B., Corbière R., **Montarry J.** et Andrivon D. (2015) Patrons d'adaptation à la température chez *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre. REID champignons, Lyon, 23-26 mars 2015.
- Juhel A., Eoche-Bosy D., Fournet S., Kerlan M.C., Grenier E. et **Montarry J.** (2014) Identification des régions génomiques associées à l'adaptation de *Globodera pallida* à la résistance de la pomme de terre. 36ème Petit Pois Déridé, Orsay, France, 25-28 août 2014.
- Kerlan M.C., **Montarry J.**, Renault L., Dantec J.P., Rouaux C. and Fournet S. (2014) Which resistance origin to exploit for durable resistance to the potato cyst nematode *Globodera pallida*? 19th Triennial Conference of the European Association for Potato Research (EAPR), Brussels, Belgium, 06-11 July 2014.

- Mariette N., **Montarry J.**, Boulard F., Mabon R., Corbière R. and Andrivon D. (2014) Aggressiveness and genetic structure of French populations of *Phytophthora infestans* from 2001 to 2008: are the most aggressive isolates the fittest? 19th Triennial Conference of the European Association for Potato Research (EAPR), Brussels, Belgium, 06-11 July 2014.
- Montarry J.**, Jan P.L., Gracianne C., Bardou-Valette S., Fournet S., Grenier E. and Petit E. (2014) Heterozygote deficits in cyst forming plant parasitic nematodes: disentangling consanguinity and Wahlund effect. Evolutionary Biology of Caenorhabditis and other nematodes, Hinxton, Cambridge, UK, 14-17 June 2014.
- Eoche-Bosy D., Juhel A., Fournet S., Kerlan M.C., Grenier E. and **Montarry J.** (2014) Phenotypic and genomic modifications associated with *Globodera pallida* adaptation to potato resistances. Evolutionary Biology of Caenorhabditis and other nematodes, Hinxton, Cambridge, UK, 14-17 June 2014.
- Mariette N., **Montarry J.**, Boulard F., Mabon R., Corbière R. et Andrivon D. (2014) Aggressivité et évolution des populations de *Phytophthora infestans*. 6èmes Journées des Doctorants de SPE, Bordeaux, 3-5 juin 2014.
- Grenier E., Fournet S., Kerlan M.C., Eoche-Bosy D. and **Montarry J.** (2014) Direct and indirect consequences of *Globodera pallida* selection by resistant potato genotypes. Journal of Nematology 46: 169. 6th International Congress of Nematology, Cape Town, South Africa, 04-09 May 2014.
- Boucher A.C., Mimee B., **Montarry J.**, Belair G., Moffett P. and Grenier E. (2013). Genetic diversity of the golden potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* inferred from microsatellite loci and determination of the origin of populations in Quebec, Canada. 65th International Symposium on Crop Protection, Gent, Belgium, 21 May 2013.
- Boucher A.C., Mimee B., **Montarry J.**, Belair G., Moffett P. and Grenier E. (2013). Genetic diversity of the golden potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* inferred from microsatellite loci and determination of the origin of populations in Quebec, Canada. 2nd édition des rencontres Rennaises "Invasions biologiques", Rennes, France, 21 Novembre 2013.
- Kerlan M.C., **Montarry J.**, Renault L., Dantec J.P., Rouaux C. and Fournet S. (2012) Direct and indirect consequences of *Globodera pallida* selection by resistant plants. Plant Resistance Sustainability, La Colle-sur-Loup, France, 16-19 October 2012.
- Andrivon D., Corbière R., Glais I., **Montarry J.**, Pasco C. and Marquer B. (2012) Erosion of quantitative resistance to *Phytophthora infestans*: from field observations to understanding population evolution. Plant Resistance Sustainability, La Colle-sur-Loup, France, 16-19 October 2012.
- Quenouille J., **Montarry J.**, Palloix A. et Moury B. (2012) Plus fort, plus loin, plus lent : Comment le fond génétique de la plante peut augmenter la durabilité d'un gène majeur de résistance. Petit Pois Déridé 2012, 34ème réunion annuelle du Groupe d'Etude de Biologie et Génétique des Populations, Avignon, France, 28-31 Août 2012.
- Boucher A.C., Mimee B., **Montarry J.**, Bélair G., Moffett P. et Grenier E. (2012) Développement de marqueurs microsatellites et structure génétique des populations de *Globodera rostochiensis* au Québec. Congrès de la Société de Protection des Plantes du Québec, Salaberry-de-Valleyfield, Canada, 5-6 June 2012.
- Fournet S., Kerlan M.C., Renault L., Dantec J.P., Rouaux C. et **Montarry J.** (2012) Conséquences directes et indirectes de la sélection de nématodes par des plantes

- résistantes. 8ème colloque de la Société Française de Phytopathologie, Paris, France, 5-8 Juin 2012.
- Fournet S., Kerlan M.C., Renault L., Dantec J.P., Rouaux C. et **Montarry J.** (2012) Conséquences directes et indirectes de la sélection de nématodes par des plantes résistantes. Réseau Ecologie des Interactions Durables, Rennes, France, 6-8 Février 2012.
- Fabre F., **Montarry J.**, Coville J., Senoussi R., Simon V. and Moury B. (2011) Modelling the evolutionary dynamics of viruses within their hosts: a case study using high-throughput sequencing. Réseau d'Evolution Virale, Montpellier, France, 06-07 Octobre 2011.
- Vanneste J.L., Morris C.E., Sands D.C., **Montarry J.**, Oakley B., Guilbaud C. and Glaux C. (2011) Genetic and phenotypic diversity of *Pseudomonas syringae* strains isolated from waterways on three continents. 18th Biennial Australasian Plant Pathology Society meeting, Darwin, Australia, 26-29 April 2011.
- Quenouille J., **Montarry J.**, Palloix A. et Moury B. (2011) Pourquoi une résistance polygénique est-elle plus durable qu'une résistance monogénique ? 13ièmes Rencontres de Virologie Végétale de la SFP, Aussois, France, 16-20 Janvier 2011.
- Montarry J.**, Janzac B., Palloix A. et Moury B. (2010) Identification d'indicateurs de durabilité des résistances des plantes aux maladies. 1er Colloque National d'Ecologie Scientifique, Montpellier, France, 2-4 Septembre 2010.
- Janzac B., **Montarry J.**, Palloix A., Navaud O. and Moury B. (2010) A mutation in Nib cistron of Potato virus Y confers virulence towards the *Pvr4* resistance of pepper and a high competitiveness cost in susceptible cultivar. 11th International Plant Virus Epidemiology Symposium & 3rd Workshop of Plant Virus Ecology Network, Ithaca, New-York, USA, 20-24 June 2010.
- Cartolaro P., **Montarry J.**, Richard-Cervera S. and Delmotte F. (2010) Can early population structure of *Erysiphe necator* inform about the disease level on bunches? 6th International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew, Bordeaux, France, 04-09 June 2010.
- Dufour M.C., Fontaine S., **Montarry J.** and Corio-Costet M.F. (2010) Determination of genetic groups and DMI resistance of *Erysiphe necator* in field samples by a real-time PCR assay. 6th International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew, Bordeaux, France, 04-09 June 2010.
- Leyronas C., Duffaud M., **Montarry J.** and Nicot P. (2010) Evolution of abundance and genetic structure of *Botrytis cinerea* airborne inoculum in the South East of France over 2.5 years. 15th International Botrytis Symposium, Cádiz, Spain, 30 May – 04 June 2010.
- Montarry J.**, Glais I., Corbière R., Magalon H., Delmotte F. and Andrivon D. (2010) The A2 invasion of *Phytophthora infestans* in France: population structures during the first few years. 12th Euroblight Workshop, Arras, France, 3-6 May 2010.
- Moury B., Fabre F., **Montarry J.**, Simon V., Janzac B., Ayme V. et Palloix A. (2010) Adaptation des virus de plantes aux variétés cultivées : à la conquête des résistances durables. XII Journées Francophones de Virologie, Paris, France, 18-19 Mars 2010.
- Hamelin F.M., **Montarry J.** et Andrivon D. (2010) Sur les déterminants évolutifs de la période de latence chez *Phytophthora infestans*. VIII Rencontres de Phytopathologie/Mycologie de la Société Française de Phytopathologie, Aussois, France, 25-29 Janvier 2010.
- Andrivon D., **Montarry J.**, Corbière R., Glais I., Magalon H. and Pasco C. (2009) *Phytophthora infestans*: a life of evolutionary compromises. 10th International Epidemiology Workshop, Geneva, NY, USA, 7-12 June 2009.

- Montarry J.**, Corbière R., Glais I. and Andrivon D. (2008) Estimating virulence costs from population data in *Phytophthora infestans*. EuroBlight Workshop, Hamar, Norway, 28-31 October 2008.
- Corbière R., **Montarry J.**, Glais I., Viard A. and Andrivon D. (2008) Aggressiveness differences between A1 and A2 isolates of *Phytophthora infestans* from France. EuroBlight Workshop, Hamar, Norway, 28-31 October 2008.
- Montarry J.**, Cartolaro P., Jolivet J., Delmotte F. et Willocquet L. (2008) Evolution de l'agressivité de populations locales d'*Erysiphe necator*, agent de l'oïdium de la vigne, au cours d'une saison épidémique. VII Rencontres de Phytopathologie/Mycologie de la Société Française de Phytopathologie, Aussois, France, 20-24 Janvier 2008.
- Corbière R., **Montarry J.** and Andrivon D. (2007) Effect of aggressiveness level of *Phytophthora infestans* on over-winter survival of tubers. Pathology Section Seminar of EAPR (European Association of Potato Research), Hattula, Finland, July 2-6th 2007.
- Montarry J.**, Corbière R., Glais I., Pellé R., Ellissèche D. and Andrivon D. (2007) Pathogenicity, survival and transmission over seasons of *Phytophthora infestans* isolates. International Meeting on Population and Evolutionary Biology of Fungal Symbionts, Ascona, Switzerland, 29 April – 04 May 2007.
- Montarry J.**, Corbière R. and Andrivon D. (2006) Does the over-winter survival of *Phytophthora infestans* lead to a negative selection of the most aggressive isolates? APS/CPS/MSA Joint Meeting, Québec City, Canada, 29 July – 2 August 2006. Phytopathology 96: S57.
- Montarry J.**, Corbière R., Lesueur S., Glais I. et Andrivon D. (2006) Sélection d'une population locale de *Phytophthora infestans* par des variétés de pomme de terre présentant différents niveaux de résistance. VI Rencontres de Phytopathologie/Mycologie de la Société Française de Phytopathologie, Aussois, France, 15-19 Janvier 2006.
- Montarry J.**, Corbière R., Lesueur S., Glais I. and Andrivon D. (2005) Adaptation of *Phytophthora infestans* to resistant and susceptible potato cultivars at local and regional scales. Sixteenth EAPR Triennial Conference, Bilbao, Spain, July 17-22th 2005.
- Andrivon D., Corbière R., **Montarry J.**, Pilet F., Lesueur S., Glais I., Pellé R. and Ellissèche D. (2005) Adaptation to host resistance in populations of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*: observations and implications. Blight Mop final Conference, Newcastle, July 01 2005.
- Montarry J.**, Corbière R., Lesueur S., Glais I. et Andrivon D. (2005) Structuration des populations de *Phytophthora infestans* par des variétés de pomme de terre présentant différents niveaux de résistance. VI rencontres du groupe oomycètes de la SFP, Clermont-Ferrand, France, 14-15 juin 2005.
- Montarry J.**, Corbière R., Lesueur S., Glais I. and Andrivon D. (2004) Adaptation of *Phytophthora infestans* to potato genotypes with different levels of resistance. EAPR Pathology Section Meeting, Lille, France, July 11-16th 2004.
- Bouček-Méchiche K., Monfort F., Mialdéa G., **Montarry J.** and Andrivon D. (2004) Nested-PCR and TaqMan PCR: two useful tools to assess seed borne inoculum as a source for soil contamination by *S. subterranea*. EAPR Pathology Section Meeting, Lille, France, July 11-16th 2004.

**Communications affichées dans des congrès**

- Grenier E., Kiewnick S., Smant G., Fournet S., **Montarry J.**, Holterman M., Van de Elsen S., Helder J. and Goverse A. (2018) PALADAPT: A project for monitoring and tackling genetic selection in the PCN *Globodera pallida*. ESN 2018, Ghent, Belgium, 9-13 September 2018.
- Lebreton L., Chaminade V., Cortesero A.M., Daval S., Fournet S., Gazengel K., Guillerm-Erckelboudt A.Y., Lachaise T., Linglin J., Manzanares-Dauleux M., **Montarry J.**, Paty C., Poinot D., Porte C., Ourry M. and Mougel C. (2018) Does the soil microbiota modulate the interactions between *Brassica napus* and its bioaggressors? Pathobiome 2018, Ajaccio, France, 18-19 March 2018.
- Mariette N., Mabon R., Piriou C., Corbière R., **Montarry J.** et Andrivon D. (2016) *Phytophthora infestans* : quelle stratégie de vie pour survivre ?. 11ièmes Rencontre de Phytopathologie-Mycologie de la SFP, Aussois, France, 25-29 Janvier 2016.
- Pasco C., Marquer B., **Montarry J.** et Andrivon D. (2016) Les petits tubercules survivent-ils moins bien que les gros pendant l'hiver ? 11ièmes Rencontre de Phytopathologie-Mycologie de la SFP, Aussois, France, 25-29 Janvier 2016.
- Eoche-Bosy D., Juhel A., Grenier E. and **Montarry J.** (2015) Investigation of the molecular basis of the adaptation of the cyst nematode *Globodera pallida* to potato resistances with genome scan approaches using microsatellite markers and NGS data. SMBE Satellite meeting SMBEBA 2015: Investigating biological adaptation with NGS: data and models. Montpellier, France, 26-29 May 2015.
- Mabon R., Mariette N., Corbière R., Marquer B., **Montarry J.** and Andrivon D. (2015) Genotypic and phenotypic characterization of *Phytophthora infestans* isolates sampled in Brittany in two consecutive years (2013-2014). 15th EuroBlight Workshop, Brasov, Romania, 10-13 May 2015.
- Eoche-Bosy D., Juhel A., Fournet S., Kerlan M.C., Grenier E and **Montarry J.** (2014) Phenotypic and genomic modifications associated with *Globodera pallida* adaptation to potato resistances. Bioinformatics for Environmental Genomics Workshop, Lyon, France, 27-28 May 2014.
- Alenda C., **Montarry J.** and Grenier E. (2014) Intraspecific variability and genetic structure in French *Globodera tabacum* populations. Journal of Nematology 46: 133. 6th International Congress of Nematology, Cape Town, South Africa, 04-09 May 2014.
- Mariette N., **Montarry J.**, Corbière R. et Andrivon D. (2014) Agressivité et évolution des populations de *Phytophthora infestans*. 10ièmes Rencontre de Phytopathologie-Mycologie de la SFP, Aussois, France, 27-31 Janvier 2014.
- Boucher A.C., Mimee B., **Montarry J.**, Bélair G., Moffett P. and Grenier E. (2012) Genetic structure of golden nematode populations from Quebec, Canada, with the use of new microsatellite markers. Journal of Nematology 44: 454-454. 51st Annual Meeting of the Society of Nematologists, Savannah, Georgia, USA, 12-15 August 2012.
- Fabre F., **Montarry J.**, Coville J., Senoussi R., Simon V. and Moury B. (2011) Mathematical modeling of the high-throughput sequencing sheds light on the evolutionary dynamics of viruses within their hosts. Plant Virus Ecology Network, Montpellier, France, 30 May – 01 June 2011.
- Morris C.E., Sands D.C., Vanneste J.L., **Montarry J.**, Oakley B., Guilbaud C. and Glaux C. (2010) Biogeography of the plant pathogen *Pseudomonas syringae* in alpine headwaters of rivers in the USA, France and New Zealand. 9th International Symposium on the

- Microbiology of Aerial Planr Surfaces, Oregon State University, USA, 14-18 August 2010.
- Montarry J.**, Moury B. et Jacquemond M. (2009) Evaluation de la durabilité de résistances végétales par la mesure de l'évolution de populations virales. 12<sup>èmes</sup> Rencontres de Virologie Végétale de la SFP, Aussois, France, 18-22 Janvier 2009.
- Corbière R., **Montarry J.**, Glais I., Marquer B. et Andrivon D. (2008) Types de compatibilité sexuelle de *Phytophthora infestans* : quel lien avec le pouvoir pathogène ? PotatoEurope 2008, 5<sup>ème</sup> Journées Internationales de la Pomme de Terre, Villers Saint Christophe, France, 10-11 Septembre 2008.
- Montarry J.**, Corbière R., Glais I. et Andrivon D. (2008) Coûts de virulence chez *Phytophthora infestans* : absence complète ou trade-offs ? VII Rencontres de Phytopathologie/Mycologie de la Société Française de Phytopathologie, Aussois, France, 20-24 Janvier 2008.
- Montarry J.**, Glais I., Corbière R. et Andrivon D. (2008) Adaptation des populations de *Phytophthora infestans* aux variétés de pomme de terre dominantes à l'échelle des bassins de production français. VII Rencontres de Phytopathologie/Mycologie de la Société Française de Phytopathologie, Aussois, France, 20-24 Janvier 2008.
- Dufour M.C., Abadie P., Lafarge D., **Montarry J.** et Corio-Costet M.F. (2008) Etude de la diversité et de la compétitivité de parasites obligatoires de la vigne (*Plasmopara viticola* et *Erysiphe necator*) : méthodes de PCR quantitative. VII Rencontres de Phytopathologie/Mycologie de la Société Française de Phytopathologie, Aussois, France, 20-24 Janvier 2008.
- Montarry J.**, Corbière R. et Andrivon D. (2006) La survie hivernale de *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre, entraîne-t-elle une contre sélection des souches les plus agressives ? VI Rencontres de Phytopathologie/Mycologie de la Société Française de Phytopathologie, Aussois, France, 15-19 Janvier 2006.
- Montarry J.**, Corbière R., Lesueur S., Glais I. and Andrivon D. (2005) Local adaptation of *Phytophthora infestans* to resistant and susceptible potato cultivars. 9th International Workshop on Plant Disease Epidemiology, Landerneau, France, April 11-15th 2005.
- Montarry J.**, Corbière R., Lesueur S., Glais I. et Andrivon D. (2005) Structure génotypique et phénotypique de populations de *Phytophthora infestans* issues de variétés de pomme de terre présentant différents types ou niveaux de résistance. VI Congrès de la Société Française de Phytopathologie, Toulouse, France, 23-25 Févier 2005.

