



**HAL**  
open science

## Are transposable elements drivers of effector birth and diversification in *Leptosphaeria* species?

Jonathan J. Grandaubert, Marie-Helene Balesdent, H. H. Borhan., M. M. Links, Thierry T. Rouxel

### ► To cite this version:

Jonathan J. Grandaubert, Marie-Helene Balesdent, H. H. Borhan., M. M. Links, Thierry T. Rouxel. Are transposable elements drivers of effector birth and diversification in *Leptosphaeria* species?. 9. Rencontres de Phytopathologie-Mycologie de la Société Française de Phytopathologie (SFP), Jan 2012, Aussois, France. pp.26-26. hal-00999917

**HAL Id: hal-00999917**

**<https://hal.science/hal-00999917>**

Submitted on 3 Jun 2020

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

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

# Journées Jean Chevaugeon 2012



## 9<sup>èmes</sup> Rencontres de Phytopathologie-Mycologie de la Société Française de Phytopathologie (SFP)

16 au 20 janvier 2012

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

<http://colloque.inra.fr/jjc2012>



Science For A Better Life

# Journées Jean Chevaugeon 2012

Après plusieurs éditions organisées par nos collègues montpelliérains du CIRAD et de l'IRD, puis le passage du témoin en 2010, le Comité d'Organisation nancéien a de nouveau le plaisir et l'honneur d'organiser cette 9<sup>ème</sup> cuvée des JJC. Nous souhaitons faire de ces JJC2012 un moment d'échanges fructueux entre de nombreuses équipes de recherche de la communauté des phytopathologistes et mycologues, dans une ambiance conviviale et détendue. Comme les années précédentes, le programme de ces journées a été élaboré de façon à faire participer activement les étudiants et jeunes chercheurs.

Annick Brun, Agnès Didier, Sébastien Duplessis, Pascal Frey et Emmanuelle Morin

Ces rencontres ont pu être organisées grâce au soutien financier de l'INRA, du CIRAD, de la Société BAYER, de l'Ambassade de France au Japon et de la SFP.

## Le Comité d'Organisation :

Annick Brun	Université de Lorraine
Agnès Didier	INRA Nancy
Sébastien Duplessis	INRA Nancy
Pascal Frey	INRA Nancy
Emmanuelle Morin	INRA Nancy

## Le Comité Scientifique :

Annick Brun	Université de Lorraine
Sébastien Duplessis	INRA Nancy
Diana Fernandez	IRD Montpellier
Pascal Frey	INRA Nancy
Harald Keller	INRA Sophia
Christian Lannou	INRA Grignon
Claire Neema	AgroParisTech Paris
Franck Panabières	INRA Sophia
Marc-André Selosse	Université de Montpellier
Didier Tharreau	CIRAD Montpellier

# Journées Jean Chevaugeon

16 au 20 janvier 2012

Centre Paul Langevin, Aussois (France)

## Programme

### Lundi 16 janvier – après-midi

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

### Mardi 17 janvier – matin

8h15-8h30            **Ouverture des JJC par le Comité d'Organisation et le Président de la SFP**

#### Session 1 : «INTERACTIONS MOLECULAIRES»

Animateurs :        **Elodie Gaulin** (*Université Toulouse*)  
                              **Thomas Kroj** (*INRA Montpellier*)

8h30-9h00            **Conférencier invité : Ryohei Terauchi** (*Iwate Biotechnology Research Center, Japon*)  
                              *Genomics reveals Magnaporthe-rice interactions*

9h00-9h20            **Thomas Kroj** (*UMR BGPI, INRA Montpellier*)  
                              *Direct recognition of the Magnaporthe oryzae effectors AvrCO39 and AvrPia by C-terminal sequences of the rice resistance protein RGA5*

9h20-9h40            **Isabelle Fudal** (*UR BIOGER, INRA Grignon*)  
                              *The avirulence gene AvrLm4-7 of Leptosphaeria maculans: linking crystal structure, functional and evolutionary characteristics*

9h40-10h00           **Pierre-Henri Clergeot** (*Växtpysiologi, Botaniska Institutionen, Université de Stockholm*)  
                              *Sécrétion et virulence chez une Pléosporale pathogène des racines de la tomate: caractérisation d'un nouveau type de toxine protéique sélective d'hôte chez Pyrenochaeta lycopersici*

10h00-10h30           **Pause café**

10h30-10h50           **Benjamin Petre** (*UMR IAM, INRA Nancy*)  
                              *Analyse fonctionnelle d'effecteurs candidats chez le champignon biotrophe Melampsora larici-populina*

10h50-11h10           **Chérif Chetouhi** (*UMR GDEC, INRA Clermont*)  
                              *Fusarium graminearum, un agent pathogène manipulateur ?*

11h10-11h30           **Diana Ramirez** (*UMR LRSV, Université Paul Sabatier Toulouse*)  
                              *Détection et caractérisation des effecteurs intracellulaires "Crinklers" de l'oomycète Aphanomyces euteiches, parasite de légumineuses*

- 11h30-11h50**      **Claire Veneault-Fourrey** (*UMR IAM, Université de Lorraine, Nancy*)  
Caractérisation fonctionnelle de petites protéines secrétées (MiSSPs) par le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* lors du développement symbiotique
- 11h50-12h10**      **Jessica Soyer** (*UR BIOGER, INRA Grignon*)  
L'expression des gènes codant des effecteurs nécessite une décondensation de la chromatine chez *Leptosphaeria maculans*, champignon pathogène du colza
- 12h10-12h20**      **Présentation des posters de la session « Interactions Moléculaires »**
- 12h30**              **Déjeuner**

### Mardi 17 janvier – après-midi

- 16h00-17h30**      **Pause goûter et session posters « Interactions Moléculaires »**

#### Session 1 : « INTERACTIONS MOLECULAIRES »

Animateurs :      **Elodie Gaulin** (*Université Toulouse*)  
                         **Thomas Kroj** (*INRA Montpellier*)

- 17h30-17h50**      **Harald Keller** (*UMR IBSV, INRA Sophia*)  
Un récepteur végétal contribuant à la sensibilité d'*Arabidopsis thaliana* aux infections par des oomycètes et champignons (hémi-biotrophes)
- 17h50-18h10**      **Thomas Rey** (*UMR LRSV, Université Paul Sabatier Toulouse*)  
Etude du rôle de gènes impliqués dans les symbioses lors d'une interaction avec un parasite racinaire chez la légumineuse modèle *Medicago truncatula*
- 18h10-18h30**      **Hervé Lalucque** (*UMR IGM, Université de Paris-Sud*)  
Control of a MAPK-generated hereditary unit by a second MAPK pathway in *Podospora anserina*
- 18h30-18h50**      **Sylvain Jeandroz** (*AgroSup Dijon*)  
Etude du rôle du monoxyde d'azote (NO) dans la réponse du transcriptome d'*Arabidopsis thaliana* aux oligogalacturonides, un éliciteur des réactions de défense
- 18h50-19h10**      **Steven Colas** (*Laboratoire SDRP, Université de Reims Champagne Ardenne*)  
Expression, localisation et dégradation des deux protéines PR majoritaires de la baie de raisin au cours de l'infection par *Botrytis cinerea*
- 19h10-19h30**      **Benoit Calmes** (*UMR IRHS,, Université d'Angers*)  
Rôle des Glutathion-S-transférases fongiques dans la protection contre les métabolites de défenses des Brassicacées
- 19h40**              **Dîner**
- 21h00-22h00**      **Table ronde : le réseau R-syst champignons**  
Animateurs : **Valérie Laval** (*INRA Grignon*) et **Marc Buée** (*INRA Nancy*)

**Mercredi 18 janvier – matin**

**Session 1 : «INTERACTIONS MOLECULAIRES»**

Animateurs : **Elodie Gaulin** (*Université Toulouse*)  
**Thomas Kroj** (*INRA Montpellier*)

- 8h30-8h50** **Patrick Saindrenan** (*IBP, CNRS, Université de Paris-Sud*)  
Potentialisation des réponses de défense par le phosphite chez *Arabidopsis thaliana* infecté par *Hyaloperonospora arabidopsidis*
- 8h50-9h10** **Saad Azeddine** (*UR BIOGER, INRA Grignon*)  
Caractérisation du gène *cyp684* responsable de la résistance au fenhexamid chez l'espèce *Botrytis pseudocinerea*

**Session 2 : «TAXONOMIE, PHYLOGENIE ET ECOLOGIE DES COMMUNAUTES»**

Animateurs : **Marc-André Selosse** (*Université Montpellier*)  
**Marc Buée** (*INRA Nancy*)

- 9h10-9h40** Conférencier invité : **Dirk Redecker** (*UMR Agroécologie, Université de Bourgogne*)  
Elucidating the genetic structure of populations of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota)
- 9h40-10h00** **Oula Shahin** (*CEFE, CNRS Montpellier*)  
Distribution de la diversité ectomycorhizienne à l'échelle régionale : effet du régime des précipitations dans les écosystèmes méditerranéens dominés par le chêne vert
- 10h00-10h30** **Pause café**
- 10h30-10h50** **Yonathan Arfi** (*UMR BCF, INRA Marseille*)  
Etude de la diversité fongique d'une mangrove par pyroséquençage massif de multiples marqueurs moléculaires
- 10h50-11h10** **Ana Rincon** (*CSIC Madrid*)  
Diversité et structure des communautés fongiques associées au pin sylvestre le long de gradients altitudinaux en Europe
- 11h10-11h30** **Julien Roy** (*LECA, CNRS Grenoble*)  
The impact of an alpine cushion plant on fungal and bacterial assemblages
- 11h30-11h50** **Laetitia Brigitte** (*URGI, INRA Versailles*)  
Analyse bioinformatique des données de métagénomique fongique
- 11h50-12h10** **Jean-Marc Bonneville** (*LECA, CNRS Grenoble*)  
Une comparaison des métatranscriptomes eucaryotes de deux sols alpins
- 12h10-12h20** **Présentation des posters des sessions** « Taxonomie, Phylogénie et Ecologie des Communautés » et « Génomique des champignons »
- 12h30** **Déjeuner**

**Mercredi 18 janvier– après-midi**

**16h00-17h30**      **Pause goûter et session posters** « Taxonomie, Phylogénie et Ecologie des Communautés » et « Génomique des champignons »

**Session 3 : «GENOMIQUE DES CHAMPIGNONS»**

Animateurs :      **Etienne Danchin** (INRA Sophia-Antipolis)  
**Sébastien Duplessis** (INRA Nancy)

- 17h30-18h00**      Conférencier invité : **Bernard Henrissat** (UMR AFMB, CNRS Marseille)  
 Explorer la diversité des CAZomes fongiques
- 18h00-18h20**      **Jonathan Grandaubert** (UR BIOGER, INRA Grignon)  
 Are Transposable Elements Drivers of Effector Birth and Diversification in *Leptosphaeria* Species ?
- 18h20-18h40**      **Franck Panabières** (UMR IBSV, INRA Sophia)  
 Génomique comparative de la spécificité parasitaire de *Phytophthora parasitica*
- 18h40-19h00**      **Damien Formey** (UMR LRSV, Université Paul Sabatier Toulouse)  
 L'analyse comparative des génomes mitochondriaux de plusieurs souches de *Glomus irregulare* montre une corrélation entre variabilité mitochondriale et nucléaire
- 19h00-19h20**      **Marc-Henri Lebrun** (UR BIOGER, CNRS Grignon)  
 Génomique comparative des champignons : Existe-t-il des réorganisations génomiques associées à l'évolution des stratégies infectieuses ?
- 19h30**              **Dîner et soirée dansante**

**jeudi 19 janvier– matin**

**Session 4 : «GENETIQUE ET EVOLUTION DES POPULATIONS»**

Animateurs :      **Virginie Ravigné** (Cirad Montpellier)  
**Lilian Gout** (AgroParisTech, Grignon)

- 8h50-9h20**      Conférencière invitée : **Anna-Liisa Laine** (University of Helsinki, Finland)  
 Tracking evolution in a natural plant-pathogen metapopulation
- 9h20-9h40**      **Benoit Barrès** (UMR BIOGECO, INRA Bordeaux)  
 Identifier les scénarios complexes de colonisation à l'échelle continentale des champignons pathogènes à l'aide des méthodes ABC
- 9h40-10h00**      **Lucie Vincenot** (Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige, Italie)  
*Laccaria amethystina*, modèle d'étude multi-échelles de la structure génétique spatiale des populations de Basidiomycètes ectomycorhiziens tempérés
- 10h00-10h20**      **Claire Neema** (UR BIOGER, AgroParisTech Grignon)  
 Structure des populations de *Botrytis cinerea* à l'échelle mondiale avec des marqueurs SNP neutres et sélectionnés

- 10h20-10h50**            **Pause café**
- 10h50-11h10**           **Thibault Leroy** (*UMR IRHS, INRA Angers*)  
Les barrières génétiques endogènes chez les pathogènes : la virulence Vf de *Venturia inaequalis* à l'épreuve des scans génomiques
- 11h10-11h30**           **Michaël Pernaci** (*UMR IAM, INRA Nancy*)  
Evolution de la taille des spores au cours de la dispersion de *Melampsora larici-populina*, agent de la rouille du peuplier
- 11h30-11h50**           **Julien Papaix** (*UR BIOGER, INRA Grignon*)  
Evolution of specialisation in spatial metapopulations
- 11h50-12h10**           **Magda Castel** (*UMR IGEPP, INRA Rennes*)  
L'évolution peut-elle conduire un parasite hétérothallique à l'extinction ?
- 12h10-12h30**           **Présentation des posters des sessions** «Génétique et Evolution des Populations» et «Epidémiologie»
- 12h40**                    **Déjeuner**

**jeudi 19 janvier – après-midi**

- 16h00-17h30**           **Pause goûter et sessions posters** «Génétique et Evolution des Populations» et «Epidémiologie»

**Session 5 : «EPIDEMIOLOGIE»**

Animateurs :        **Marie Gosme** (*INRA Grignon*)  
                              **Frédéric Suffert** (*INRA Grignon*)

- 17h30-18h00**           Conférencière invitée : **Cindy Morris** (*UR Pathologie Végétale, INRA Avignon*)  
Setting the stage for new paradigms for plant disease epidemiology
- 18h00-18h20**           **Christel Leyronas** (*UR Pathologie Végétale, INRA Avignon*)  
Evolution de l'abondance et de la structure génétique de l'inoculum aérien de *Botrytis cinerea* sur un site maraîcher pendant 3 ans
- 18h20-18h40**           **Claude Husson** (*UMR IAM, INRA Nancy*)  
Le réchauffement climatique est-il une des causes de l'émergence du dépérissement des aulnes dû à *Phytophthora alni* en France ?
- 18h40-19h00**           **Clara Landry** (*UMR BGPI, CIRAD Guadeloupe*)  
Développement d'un modèle de simulation d'une épidémie foliaire tropicale à l'échelle de la plante: Cas des cercosporioses du bananier
- 19h00-19h20**           **Paolo Gonthier** (*Université de Turin*)  
Diffusion de l'agent exotique de pourriture racinaire des pins *Heterobasidion irregulare* en Italie: facteurs concernés et interactions avec l'espèce native *H. annosum*
- 19h30**                    **Dîner**



Vendredi 20 janvier– matin

## Session 5 : «EPIDEMIOLOGIE»

Animateurs : **Marie Gosme** (INRA Grignon)  
**Frédéric Suffert** (INRA Grignon)

- 8h40-9h00** **Benjamin Richard** (UMR IGEPP, INRA Rennes)  
Implication de l'architecture du couvert comme facteur modulant le développement épidémique de l'ascochytose (*Mycosphaerella pinodes*) du pois (*Pisum sativum*), via la sénescence des organes
- 9h00-9h20** **Agnès Calonnec** (UMR SAVE, INRA Bordeaux)  
Effet de la croissance et dynamique de développement d'une plante sur la dynamique d'une épidémie et sur la réceptivité des tissus : cas d'étude vigne-oïdium
- 9h20-9h40** **Constance Xhaard** (UR BioSP, INRA Avignon)  
Modélisation du déroulement d'une épidémie de rouille du peuplier dans la vallée de la Durance
- 9h40-10h00** **Ivan Sache** (UR BIOGER, INRA Grignon)  
Une épidémie, combien ça coûte ?
- 10h00-10h30** **Pause café**
- 10h30-10h50** **Laure Hossard** (UMR Agronomie, INRA Grignon)  
Construire et évaluer des scénarios de gestion spatiale des systèmes de culture pour accroître la durabilité des résistances au phoma chez le colza : méthode et exemples de deux terrains contrastés
- 10h50-11h10** **Christian Lannou** (UR BIOGER, INRA Grignon)  
Gérer les variétés résistantes aux maladies à l'échelle des territoires agricoles
- 11h10-11h30** **Natalia Sapoukhina** (UMR IRHS, INRA Angers)  
Fitness differences between pathogens drive the outcome of disease control based on host diversification
- 11h30-11h45** **Remise des prix de la meilleure communication orale et du meilleur poster des doctorants et clôture des JJC 2012 par le Comité d'Organisation et le Président de la SFP**
- 12h00** **Déjeuner puis départ des participants**

# **Journées Jean Chevaugeon 2012**

## **RESUMES DES PRESENTATIONS ORALES**

**Oral - Session 1 :**

**Interactions Moléculaires**

## **Genomics reveals *Magnaporthe*-rice interactions**

**R. Terauchi**

Iwate Biotechnology Research Center, Narita 22-174-4, Kitakami, Iwate 024-0003, Japan

Rice blast caused by an ascomycete fungus *Magnaporthe oryzae* is the most devastating disease of rice worldwide. Understanding of the molecular mechanisms of *Magnaporthe*-rice interactions is crucial to devise efficient means of disease control. The availability of whole genome sequences of both *M. oryzae* and rice enables us to analyze their DNA polymorphisms on the genomic scale for the purpose of association genetics as well as for population genomics analysis. Studies on the association between phenotypes-DNA polymorphisms allowed us to isolate three *M. oryzae* AVR genes, *AVR-Pia*, *AVR-Pii*, *AVR-Pik/km/kp* as well as a rice *R*-gene, *Pia*. In the talk, I wish to show our recent results on these AVRs and *R* gene and their interactions. I also wish to briefly touch our population genomics study of *Magnaporthe oryzae*.

Yoshida, K., Saitoh, H., Fujisawa, S., Kanzaki, H., Matsumura, H., Tosa, Y., Chuma, I., Takano, Y., Win, J., Kamoun, S. & Terauchi, R. (2009) Association genetics reveals three novel avirulence genes from the rice blast fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*. *Plant Cell*, 21:1573-1591.

Terauchi, R. & Yoshida, K. (2010) Towards population genomics of effector–effector target interactions. *New Phytologist*, 187:929-939.

## Direct recognition of the *Magnaporthe oryzae* effectors AvrCO39 and AvrPia by C-terminal sequences of the rice resistance protein RGA5

T. Kroj

INRA, UMR 385, Biologie des Interactions Hôte/Pathogène, Bât. K (TA A54K), Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5

Rice blast caused by the ascomycete fungus *Magnaporthe oryzae* is a major rice disease with recurrent and extremely destructive epidemics in all rice producing regions of the world. In addition to the economic and humanitarian issues associated with this disease, the model status of rice for cereals and of *M. oryzae* for phytopathogenic fungi makes the interaction between these two partners a privileged model for studying the molecular basis and genetic control of host-pathogen interactions. Rice blast resistance is largely based on the recognition of *M. oryzae* avirulence proteins (AVR) by resistance gene products (R proteins) of rice. The molecular mechanism underlying this recognition remains poorly understood despite its importance for crop protection. We addressed this issue through the study of the rice resistance gene analogue *RGA5*. *RGA5* was found to possess dual recognition specificity as it confers resistance against strains of *M. oryzae* expressing the sequence unrelated Avr proteins AvrCO39 or AvrPia. The dual recognition specificity seems to be due to alternative splicing in the 3' end of *RGA5* transcripts which gives rise to two *RGA5* isoforms, *RGA5-3* and *RGA5-4* which differ in the sequence of their C-terminus. These variable sequences seem to be involved in direct physical and specific interactions with the AVR proteins. The *RGA5-3* C-terminus interacts with AvrCO39 while *RGA5-4* C-terminal sequences interact with AvrPia. Our results suggest that alternative splicing is a mechanism to increase the *R*-gene repertoire of crop plants. In addition, it identifies precise R-protein domains that seem to be involved recognition of Avr proteins by direct physical interactions.

*Keywords:* rice, blast disease, *Magnaporthe oryzae*, disease resistance

## The avirulence gene *AvrLm4-7* of *Leptosphaeria maculans*: linking crystal structure, functional and evolutionary characteristics

F. Blaise (1), K. Blondeau (2), M. Graille (2), B. Ollivier (1), J. Linglin (1), A. Labarde (2), A. Doizy (2), B.M. Tyler (3), S.D. Kale (3), G. Daverdin (1), M-H.Balesdent (1), T. Rouxel (1), H. van Tilbeurgh (2), **I. Fudal** (1)

(1) INRA, UR1290-BIOGER-CPP, avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval-Grignon, France

(2) IBBMC-CNRS, Université Paris-Sud, UMR8619, IFR115, 91405 Orsay, France

(3) Virginia Bioinformatics Institute, Blacksburg, USA.

The avirulence gene *AvrLm4-7* of *Leptosphaeria maculans* is strongly induced during primary leaf infection and encodes a 143 amino-acid cysteine-rich protein, potentially secreted, and involved in fungal fitness [1,2]. *AvrLm4-7* crystal structure was determined following heterologous production in *Pichia pastoris*. The protein shows the presence of four disulfide bridges, and is strongly positively charged, suggesting interaction with minus charged molecules such as DNA or phospholipids. *AvrLm4-7* is translocated into plant cells and targeted to the nucleus and cytoplasm. In a heterologous system, the translocation of *AvrLm4-7* was found to be mediated by binding to PI-3-P and to necessitate the presence of a RxLR-like motif, located in an external loop of the protein in a positively charged region. However, site-directed mutagenesis targeting this RxLR-like motif did not alter the avirulent phenotype of the corresponding transformants towards the resistance genes *Rlm4* and *Rlm7*. *AvrLm4-7* confers a dual specificity of recognition by *Rlm7* and *Rlm4* resistance genes and occurs as three alleles only: the double avirulent (A4A7), the avirulent towards *Rlm7* (a4A7), or the double virulent (a4a7). A unique event of mutation, leading to the change of a glycine residue to an arginine, an amino acid located on an external loop of the protein, is responsible for the A4A7 to a4A7 phenotype change in field populations, strongly suggesting the importance of this protein region for recognition by the *Rlm4* gene, but not for the effector function of *AvrLm4-7*. In contrast, multiple mechanisms are responsible for the complete loss of avirulence (a4a7 phenotype), mostly drastic events leading to inactivation or complete deletion of the gene. Three single point mutations targeting amino acids located on external loops of the protein and unlikely to change its overall structure were also observed. Site-directed mutagenesis of these residues on an a4A7 allele resulted in a loss of *Rlm7*-mediated recognition while mutagenesis on an A4A7 allele resulted either in a4a7 or A4A7 phenotypes according to the mutation, suggesting that *AvrLm4-7* could not escape *Rlm7*-mediated recognition without also escaping *Rlm4*-mediated recognition.

[1] Huang YJ, Li ZQ, Evans N, Rouxel T, Fitt BDL, Balesdent MH (2006). *Eur J Plant Pathol* 114: 77-89.

[2] Parlange F, Daverdin G, Fudal I, Kuhn ML, Balesdent MH, Blaise F, Grezes-Besset B, Rouxel T (2009). *Mol Microbiol* 71(4):851-63.

*Keywords:* *Leptosphaeria maculans*, oilseed rape, avirulence, 3-D structure, evolution, specific resistance

## Sécrétion et virulence chez une Pléosporale pathogène des racines de la tomate: caractérisation d'un nouveau type de toxine protéique sélective d'hôte chez *Pyrenochaeta lycopersici*

P-H. Clergeot, S. Ekengren

Växtfysiologi, Botaniska Institutionen, Lillafrescativägen 5, Stockholms Universitet, Stockholm, Suède

*Pyrenochaeta lycopersici* est un champignon Ascomycète responsable de la maladie des racines liégeuses de la tomate et de plusieurs autres cultures maraîchères, telles que le melon, l'aubergine ou le concombre. La lutte contre cette maladie d'origine tellurique reste handicapée par des méthodes à efficacité limitée, au coût élevé, ou aux conditions d'utilisation trop restrictives ou dangereuses. Par ailleurs, bien que des sources de résistance aient été identifiées chez des variétés sauvages de la tomate, leur introduction chez des cultivars d'intérêt commercial a rarement été tentée, du fait d'un déterminisme génétique trop complexe, ou d'un processus de sélection trop coûteux et trop peu fiable. L'approche proposée ici vise à décomposer les interactions moléculaires de ce pathosystème en éléments plus simples et génétiquement traçables, susceptibles d'orienter la sélection de variétés résistantes. Elle repose tout d'abord sur la mise au point de biotests permettant de détecter les molécules sécrétées par le champignon qui contribuent au développement de symptômes analogues à ceux observés lors de l'infection. Elle s'appuie ensuite sur la confirmation du rôle joué par ces molécules durant l'infection, par une étude de leur expression et de leur spectre d'hôte, et par leur analyse fonctionnelle. Elle tire parti des connaissances récemment acquises chez d'autres champignons pathogènes de l'Ordre des Pléosporales auxquels *P. lycopersici* est étroitement apparenté<sup>1</sup>, *Pyrenophora teres*, *Phaeosphaeria nodorum* et *Pyrenophora tritici-repentis*. Ces deux derniers ont en commun de produire des toxines protéiques sélectives d'hôtes qui contribuent quantitativement à la virulence, et qui interagissent spécifiquement avec le produit de gènes de sensibilité particuliers de leur hôte<sup>2</sup>. Un premier biotest nous a permis de préciser certains aspects encore méconnus de l'étiologie de la maladie des racines liégeuses de la tomate, mais aussi de mettre en évidence l'activité nécrosante d'une macromolécule fongique de 10-15 kDa sensible à la chaleur, activité qui s'exerce spécifiquement sur l'apex de la racine<sup>3</sup>. Un second biotest nous a conduit à purifier et à caractériser CDiT1 (Cell Death in Tomato 1), un nouveau type de toxine protéique dont l'activité est hôte-spécifique. CDiT1 se présente à l'état natif sous forme de dimère, le gène qui l'encode est fortement exprimé lors de l'infection, et elle contribue à la colonisation des racines de variétés de tomate sensibles<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Zhang et al. (2009) *Stud. Mycol.* 64 :85-102.

<sup>2</sup>Friesen et al. (2008) *Mol. Microbiol.* 10 :1421-1428.

<sup>3</sup>Clergeot et al. (2011) *Acta Agric. Scand. Sect. B, Soil and Plant Sci.* (Sous presse)

<sup>4</sup>Clergeot et al. (Manuscrit en préparation)

*Mots-clés* : toxine sélective d'hôte, virulence, sécrétion, *Pyrenochaeta lycopersici*, tomate, Pléosporales

## Analyse fonctionnelle d'effecteurs candidats chez le champignon biotrophe *Melampsora larici-populina*

B. Petre (1), H. Germain (2), D. Joly (3), P. Frey (1), N. Rouhier (1), A. Hecker (1), A. Séguin (2), S. Duplessis (1)

(1) UMR 1136 Interactions Arbres/Microorganismes, INRA/Nancy Université, Champenoux, France,

(2) Service Canadien des Forêts, Centre de Foresterie des Laurentides, Québec, G1V 4C7 Canada,

(3) Agriculture & Agri-Food Canada, Pacific Agri-Food Research Centre, Summerland, BC, Canada

Lors de l'interaction avec leurs hôtes, les micro-organismes biotrophes sécrètent des effecteurs au sein des tissus vivants colonisés. Ces effecteurs peuvent être des facteurs de pathogénicité (manipulation de la physiologie de l'hôte et promotion de la croissance biotrophe) et/ou des facteurs d'avirulence (reconnaissance spécifique de l'effecteur par le système immunitaire de la plante et mise en place de réactions de défense qui stoppent la progression du parasite). Chez les champignons biotrophes, les effecteurs décrits à ce jour sont majoritairement des petites protéines sécrétées (PPS) riches en cystéines (1). Le génome de *Melampsora larici-populina* (*Mlp*), l'agent de la rouille du peuplier, contient 1184 gènes codant des PPS, dont certains sont organisés en familles multigéniques (2). La famille *Mlp*-CPG5464 regroupe 13 gènes qui codent des PPS riches en cystéines homologues des facteurs d'avirulence AvrP4 de *Melampsora lini* (rouille du Lin), et qui présentent une signature de sélection positive (3). Notamment, les gènes *Mlp*-CPG5464.1 et *Mlp*-CPG5464.2 sont fortement induits lors de l'infection des feuilles de peuplier par *M. larici-populina* et constituent ainsi d'excellents effecteurs candidats. L'analyse des fonctions de pathogénicité et d'avirulence pour ces deux protéines a été engagée. Un système d'expression des effecteurs candidats par la bactérie *Pseudomonas syringae* pv *tomato* chez *Arabidopsis thaliana* via le système de sécrétion de type III (4,5) est utilisé pour déterminer une éventuelle fonction de pathogénicité. C'est le cas pour *Mlp*-CPG5464.1 dont l'expression confère une croissance accrue de *P. syringae* *in planta* et l'analyse est en cours pour *Mlp*-CPG5464.2. D'autre part, des essais d'infiltration des protéines recombinantes produites chez la bactérie *Escherichia coli* sont réalisés dans des feuilles de cultivars de peuplier portant différents gènes de résistance qualitative à la rouille. Des résultats préliminaires indiquent que l'infiltration de la protéine recombinante *Mlp*-CPG5464.2 induit des nécroses de type 'réponse hypersensible' sur certains cultivars, suggérant une reconnaissance cultivar-spécifique de *Mlp*-CPG5464.2 par le système immunitaire du peuplier (facteur d'avirulence). Ces résultats devront encore être confirmés. La caractérisation biochimique, l'identification des protéines cibles chez *A. thaliana* et le peuplier, la description de l'accumulation dynamique et l'immunolocalisation au sein du pathosystème de ces deux protéines sont en cours.

(1) Stergiopoulos & de Wit (2009) Fungal effector proteins. *Annu Rev Phytopathol* 47:233-263.

(2) Duplessis et al (2011) Obligate biotrophy features unraveled by the genomic analysis of rust fungi. *PNAS* 108:9166-9171.

(3) Hacquard et al. A comprehensive analysis of genes encoding small secreted proteins identifies candidate effectors in *Melampsora larici-populina* (poplar leaf rust). *MPMI*, *in press*.

(4) Sohn et al (2007) The downy mildew effector proteins ATR1 and ATR13 promote disease susceptibility in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 19:4077-4090.

(5) Rentel et al (2008) Recognition of the *Hyaloperonospora parasitica* effector ATR13 triggers resistance against oomycete, bacterial and viral pathogens. *PNAS* 105:1091-1096.

*Mots-clés* : petites protéines sécrétées, peuplier, rouille foliaire, protéines recombinantes



## ***Fusarium graminearum*, un agent pathogène manipulateur ?**

C. Chétouhi (1), Badaoui Saloua (1), F. Cambon (1), D. Biron (2), T. Langin (1)

(1) INRA, UMR 1095 INRA-UBP GDEC, F-63100 Clermont-Ferrand, France.

(2) UMR 6023 CNRS-UBP LMGE, F-63177 Aubière cedex, France.

Plusieurs hypothèses cherchent à expliquer les bases adaptatives liées à l'émergence du mode de vie parasitaire de type endophyte dont l'avantage nutritionnel conféré par un développement directement au sein des tissus végétaux apparaît comme central. L'ensemble des éléments obtenus à ce jour semblent confirmer que les parasites endophytes optimisent l'acquisition de nutriments en manipulant leur environnement végétal. Notre objectif est de tester l'hypothèse que les processus infectieux de champignons phytopathogènes reposent en grande partie sur la mise en place d'un processus d'adaptation et de manipulation de l'hôte végétal visant non seulement à diminuer les mécanismes de défense, mais surtout à optimiser l'acquisition des nutriments nécessaires à son développement. Notre modèle est l'interaction entre le blé tendre et le champignon mycotoxinogène *Fusarium graminearum*, principal responsable de la fusariose de l'épi en France. L'analyse comparée du protéome des grains sains et fusariés de la variété de blé tendre sensible réctal, à différents stades du développement du grain (de la floraison à 250 °C.j), a mis en évidence 47 protéines, réprimées (19) ou induites (28), pouvant être regroupées en deux groupes fonctionnels : (1) des protéines potentiellement liées à la réponse des plantes à des stress biotiques, abiotiques et oxydatifs, majoritairement réprimées suite à l'infection ; (2) des protéines associées à des voies métaboliques, soit induites par l'infection (fructose bisphosphate aldolase, sucrose synthase II, cysteine endopeptidase, ...), soit réprimées par l'infection (starch synthase II, protéines de faible et haut poids moléculaires (L/HMW), ...). Ces résultats préliminaires, qui révèlent un processus infectieux associant deux processus, régulation des systèmes de défense et dérégulation des voies métaboliques, suggèrent fortement que *F. graminearum* est bien un parasite manipulateur de sa plante hôte, le blé tendre.

*Mots clés* : *Fusarium graminearum*, blé tendre, protéome.

## Détection et caractérisation des effecteurs intracellulaires « Crinklers » de l'oomycète *Aphanomyces euteiches*, parasite de légumineuses

D. Ramirez, Y. Martinez, B. Dumas, E. Gaulin

Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, UM5546 CNRS-Univ Toulouse III, Pôle de Biotechnologie Végétale, 31326 Castanet-Tolosan

*Aphanomyces euteiches* est un oomycète parasite racinaire de légumineuses comme le pois fourrager, la luzerne et la plante modèle *Medicago truncatula*. Le genre *Aphanomyces*, membre des Saprolegniales, occupe une position taxonomique originale au sein des Oomycètes, et il est le seul qui, selon les espèces, est responsable de maladies affectant soit des végétaux soit des animaux. Une souche d'*A. euteiches* est actuellement en cours de séquençage au Génoscope, et l'analyse d'une collection de cDNA issues de mycelium en interaction avec *M. truncatula* [1,2] a permis d'identifier des orthologues aux gènes CRNs (Crinkling and Necrosis) identifiés initialement chez *Phytophthora infestans* [3]. Les protéines CRNs de *Phytophthora* sp. codées par plusieurs centaines de gènes, sont réparties en différentes familles. Elles se caractérisent par un motif conservé de type LFLAK, en aval du peptide signal, impliqué dans la translocation dans la cellule végétale [4] et une partie carboxyterminale hypervariable probablement impliquée dans la fonction de la protéine. *A. euteiches*, exprime deux familles de CRN, AeCRN5 et AeCRN13, présentant un motif de type LYLALK qui assure également une fonction d'adressage au sein des cellules végétales [5]. AeCRN5 et AeCRN13 s'expriment dans les phases précoces de l'interaction avec *M. truncatula*. Des analyses par microscopie confocale ont révélé que ces protéines sont adressées au noyau de la plante hôte. L'expression stable d'AeCRN5 et AeCRN13 chez *M. truncatula* entraîne des modifications de l'architecture racinaire telles qu'une réduction de l'élongation cellulaire. Chez *N. benthamiana*, ces protéines induisent la mort cellulaire. L'ensemble de ces résultats suggère que les CRN d'*A. euteiches* interviendraient en tant qu'effecteurs de pathogénie en ciblant des composés nucléaires de la cellule de l'hôte. Les derniers résultats obtenus sur l'analyse fonctionnelle de ces protéines seront présentés.

[1] Madoui et al., 2007, *BMC Genomics* 8:471

[2] Gaulin et al., 2008, *PLoS One* 3: e1723

[3] Torto et al., 2003, *Genome Res*, 13, 1675-1685.

[4] Haas et al., 2009, *Nature* 461: 393-398.

[5] Schornack et al., 2010, *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 107, 17421-17426

Mots-clés : effecteurs, aphanomyces, medicago

## Caractérisation fonctionnelle de petites protéines secrétées (MiSSPs) par le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* lors du développement symbiotique

Y. Daguerre (1), C. Veneault-Fourrey (1), A. Becquer (1), M. Kemppainen (2), J. Plett (1), A. Kohler (1), B. Montanini (3), S. Ottonello (3), A. Pardo(2), F. Martin (1), A. Brun (1)

(1) UMR1136, INRA-Nancy Université, 54280 Champenoux, France

(2) LMM, DCT, Universidad Nacional de Quilmes and CONICET, BP1876 Bernal, Argentina

(3) DBBM, Università degli Studi di Parma, 43100 Parma, Italy

Les champignons ectomycorhiziens forment des symbioses avec le système racinaire de la plupart des arbres et contribuent à améliorer leur croissance et leur résistance au stress. Malgré leur importance écologique au sein des écosystèmes forestiers, les mécanismes moléculaires contrôlant le développement et le fonctionnement de la symbiose restent peu connus. Ces dernières années, des avancées majeures ont été réalisées dans ce domaine avec le séquençage du génome du champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* et celui de son hôte, *Populus trichocarpa*. L'analyse de l'expression des gènes a souligné l'importance de petites protéines secrétées spécifiquement induites au cours du développement mycorhizien (Mycorrhizal induced Small Secreted Proteins (MiSSPs)). L'une de ces protéines, MiSSP7, a récemment été caractérisée comme un effecteur symbiotique indispensable au développement de la symbiose [1] L'analyse fonctionnelle de plusieurs autres MiSSPs (MiSSP8, 13, 17 and 22) est actuellement en cours et fait appel à des techniques variées et complémentaires telles que i) l'immunolocalisation, ii) l'expression transitoire de fusions GFP en système hétérologue (tabac, levure) afin de déterminer leur localisation subcellulaire, iii) l'analyse de lignées transgéniques de *L. bicolor*, générées par « RNA silencing ». Les premiers résultats montrent que la capacité de mycorhization, *in vitro*, des mutants MiSSP8 et MiSSP17 diminue significativement de 40 à 3-15%, iv) la recherche des protéines cibles du peuplier par le développement du système double-hybride en levure (Yeast Two Hybrid System). Les premiers résultats de cette analyse fonctionnelle seront présentés et discutés quant à leur rôle possible en tant qu'effecteur de la symbiose ectomycorhizienne.

[1] Plett *et al.* 2011, *Current Biology*, 21(14):1197-203.

*Mots clés* : symbiose ectomycorhizienne, MiSSP, effecteur.

## L'expression des gènes codant des effecteurs nécessite une décondensation de la chromatine chez *Leptosphaeria maculans*, champignon pathogène du colza

J. Soyer, M. El Ghalid, N. Glaser, B. Ollivier, J. Linglin, T. Rouxel, I. Fudal

INRA, UR BIOGER-CPP, Av. Lucien Brétignières 78850 Thiverval-Grignon France

Le génome de *Leptosphaeria maculans* présente une structure originale en isochores : alternance de régions équilibrées en bases G et C, riches en gènes (isochores GC) et de régions s'apparentant à de l'hétérochromatine, à faible taux de GC, composées de mosaïques d'éléments transposables tronqués et dégénérés, pauvres en gènes (isochores AT). 112 gènes codant des petites protéines sécrétées (PPS) souvent riches en cystéines, dont cinq ayant une activité d'effecteur démontrée expérimentalement, ont été identifiés dans ces isochores AT [1]. Ces gènes présentent pour la plupart la même cinétique d'expression avec une forte surexpression pendant l'infection primaire du colza et pas ou peu d'expression pendant la croissance mycélienne *in vitro*. Cette cinétique d'expression commune suggère soit l'intervention d'un régulateur commun soit un rôle de la structure chromatinienne des isochores AT dans le contrôle de l'expression de ces gènes. De nombreuses études sont menées visant à déterminer la fonction des effecteurs pendant l'infection mais la façon dont les gènes codant ces effecteurs sont régulés reste à élucider. Afin de tester l'influence de la structure de la chromatine sur la régulation de l'expression des gènes codant des effecteurs localisés dans les isochores AT, nous avons tout d'abord évalué l'effet d'un changement de contexte génomique d'un isochore AT vers un isochore GC sur l'expression de ces effecteurs. Nous avons également réalisé le silencing de gènes codant des enzymes clés décrites comme impliquées dans le remodelage de la chromatine et indispensables à la formation de la structure hétérochromatinienne (HP1 et DIM5;[2]) Aussi bien le silencing de *HP1* et *DIM5* (qui entraînent une décondensation visible de la chromatine) que le « déplacement » de gènes codant des effecteurs d'isochores AT vers des isochores GC conduit à une forte augmentation de l'expression de ces gènes *in vitro*, mais ne modifie pas leur cinétique d'expression *in planta*. Ces résultats démontrent que la localisation génomique des gènes codant des effecteurs a un impact majeur sur leur expression. Ainsi, la structure condensée de la chromatine contribue à une répression de l'expression des gènes codant pour des effecteurs lors des phases de croissance végétative. Le changement de mode de vie et le passage à la pathogénie se traduirait alors par une décondensation de la chromatine dont le déterminisme est inconnu, rendant les promoteurs des gènes codant des effecteurs accessibles à des facteurs de transcription plus spécifiques.

[1] Rouxel, T., Grandaubert, J., Hane, J.K., Hoede, C., van de Wouw, A.P. (2011) Effector diversification within compartments of the *Leptosphaeria maculans* genome affected by Repeat-Induced Point mutations. *Nat Commun.* 2:202

[2] Honda, S., Lewis, Z.A., Huarte, M., Cho, L.Y., David, L.L., Shi, Y., Selker, E.U. (2010) The DMM complex prevents spreading of DNA methylation from transposons to nearby genes in *Neurospora crassa*. *Genes Dev.* (5):443-54

Mots-clés : *Leptosphaeria maculans*, hétérochromatine, épigénétique, effecteurs, régulation

## Un récepteur végétal contribuant à la sensibilité d'*Arabidopsis thaliana* aux infections par des oomycètes et champignons (hémi-)biotrophes

S. Hok (1), V. Allasia (1), E. Ribes (1), E. Andrio (1), E. Danchin (1), F. Panabières (1), A. Attard (1), L. Voll (2), A. Saur (2), R. Hüchelhoven (3), Y. Marco (4), X. Barlet (4), M. Clément (5), **H. Keller** (1)

(1) UMR-Interactions Biotiques et Santé Végétale, INRA 11301-CNRS6243-Université Nice-Sophia Antipolis, Sophia Antipolis, France

(2) Friedrich-Alexander-University Erlangen-Nuremberg, Lehrstuhl für Biochemie, Erlangen, Germany

(3) Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, Lehrstuhl für Phytopathologie, Germany

(4) Laboratoire des Interactions Plantes Microorganismes, UMR CNRS-INRA 2594/441, Castanet-Tolosan,

(5) UMR 6191 CEA, Centre National de la Recherche Scientifique, Laboratoire de Biologie du Développement des Plantes, Université d'\_Aix-Marseille, Saint-Paul-lez-Durance, France

Chez les plantes, les récepteurs du type « leucine-rich repeat receptor kinase » (LRR-RK) constituent une famille de protéines membranaires qui coordonnent des procédés du développement et les réponses de l'immunité innée. De plus, ils participent à l'installation des symbiotes bactériens et fongiques dans les tissus du végétal, et des résultats récents suggèrent que les récepteurs de ce type contribuent aussi à l'accueil des agents pathogènes<sup>1,2</sup>. Nous avons identifié un LRR-RK atypique chez *Arabidopsis thaliana* qui possède dans sa portion extracellulaire des LRR rudimentaires et un domaine « malectin-like (ML) ». Le domaine ML permet à une protéine de lier des oligomères de glucose. L'absence du LRR-RK chez un mutant d'*Arabidopsis* diminue la sensibilité aux oomycètes ayant un mode de vie biotrophe ou hémibiotrophe, comme *Hyaloperonospora arabidopsidis* et *Phytophthora parasitica*. Le récepteur a ainsi été nommé « Impaired Oomycete Susceptibility 1 (IOS1) ». L'absence de IOS1 confère aux mutants également une sensibilité diminuée à l'oïdium, *Erysiphe cruciferarum*, et un phénotype d'hypersensibilité à l'acide abscissique (ABA). Nos résultats suggèrent que les agents pathogènes filamenteux (hémi-)biotrophes activent IOS1 pour réprimer, au cours de l'infection, les voies de signalisation liées à l'ABA.

<sup>1</sup>Kessler SA, Shimosato-Asano H, Keinath NF, Wuest SE, Ingram G, Panstruga R, Grossniklaus U (2010). Conserved molecular components for pollen tube reception and fungal invasion. *Science* 330, 968-971.

<sup>2</sup>Hok S, Danchin EG, Allasia V, Panabières F, Attard A, Keller H (2011). An *Arabidopsis* (malectin-like) leucine-rich repeat receptor-like kinase contributes to downy mildew disease. *Plant Cell Environ* 34, 1944-1957

*Mots-clés* : Hormone, acide abscissique, malectine, leucine-rich repeat, sensibilité

**Etude du rôle de gènes impliqués dans les symbioses lors d'une interaction avec un parasite racinaire chez la légumineuse modèle *Medicago truncatula***

T. Rey (1), C. Gough (2), J. Cullimore (2), J.-J. Bono (1), M. Bonhomme (1), A. Nars (1), B. Dumas (1), C. Jacquet (1)

(1) UMR5546, Pôle de biotechnologie Végétale, 24 chemin de Borde Rouge 31326 Castanet-Tolosan, France

(2) LIPM, UMR 441-2594 -INRA-CNRS BP 52627 chemin de Borde Rouge - Auzeville 31326 Castanet Tolosan, France

Les interactions entre plantes et micro-organismes ont un impact crucial sur les écosystèmes en milieu naturel et la productivité agricole. Au cours des dix dernières années, d'importants progrès ont été fait dans la compréhension des mécanismes qui sous-tendent les associations plantes-symbiotes et plantes-parasites. Parmi les facteurs qui régissent l'initiation d'une interaction, certains des composants moléculaires du dialogue qui existent entre la plante et son partenaire aboutissant à l'acceptation ou au rejet du microbe, ont pu être identifiés. Il s'agit notamment des facteurs NOD produits par la bactérie symbiotique *Rhizobium* et des fragments de chitine des microorganismes fongiques qui sont deux des signaux microbiens perçus par la plante. Plus récemment, des protéines impliquées dans la perception de ces deux composés, au squelette moléculaire semblable, ont été identifiées. Il s'agit dans les deux cas de récepteurs transmembranaires de type LysM-RLK [1, 2]. Ces récentes avancées mettent en évidence une grande similarité des ligands/récepteurs dans deux types d'interactions (symbiotique/pathogène) dont l'issue est différente. Ce constat soulève la possibilité que les mécanismes de perception des deux types de signaux puissent être très conservés au cours de l'évolution voire communs. Afin d'étudier cette hypothèse et les retombées qu'elle pourrait avoir sur nos pratiques culturales, nous recherchons d'éventuelles interconnexions entre réponses de défenses et réponses symbiotiques chez *Medicago truncatula*. Pour ce faire un criblage de plantes mutantes affectées dans diverses fonctions symbiotiques a été réalisé. L'objectif était d'évaluer le niveau de résistance de telles plantes vis-à-vis du parasite racinaire *Aphanomyces euteiches*. A l'issue de ce test, deux plantes mutantes affectées dans le gène *NFP* (un LysM-RLK) ont été retenues. Des analyses cytologiques et transcriptomiques au cours de l'infection par *A. euteiches* ont été entreprises, de même que des essais de perception par la plante de composés issus du parasite. L'ensemble de ces expérimentations suggèrent que le gène *NFP* contrôlerait des processus analogues au cours des deux types d'interactions aboutissant dans un cas à l'acceptation et dans l'autre au rejet du microbe.

[1] Arrighi, J.-F. *et al.* 2006. The *Medicago truncatula* Lysine Motif-Receptor-Like Kinase Gene Family Includes *NFP* and New Nodule-Expressed Genes. *Plant Physiol.* 142:265-279

[2] Miya, A *et al.* 2007. CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:19613.

*Mots-clés* : *Medicago truncatula*, *Aphanomyces euteiches*, Immunité, Symbiose.

## Control of a MAPK-generated hereditary unit by a second MAPK pathway in *Podospora anserina*

H. Lalucque (1,2), F. Malagnac (1,2), S. Brun (1,2), S. Kicka (1,2), P. Silar (1,2)

(1) Univ Paris Sud 11, Institut de Génétique et Microbiologie, UMR CNRS Bât. 400, 91405 Orsay cedex, France

(2) Univ Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, UFR des Sciences du Vivant, 75205 Paris CEDEX 13 France

1 Present address : Département de Biochimie, Faculté des Sciences, Université de Genève, Sciences II, CH-1211-Genève-4, Switzerland

HL and FM contributed equally to the work

Yeast prion formation is mostly under the control of heat shock proteins. Much less is known about the control of prion-like hereditary units involved in regulatory inheritance, such as the *C* element causing the Crippled Growth (CG) cell degeneration in the fungus *Podospora anserina*. CG results from the inappropriate autocatalytic activation of the PaMpk1 MAPK pathway during growth, while this cascade normally signals stationary phase. Here, we show that another MAP kinase pathway, PaMpk2, is crucial at every stages of the fungus life cycle, in particular those controlled by PaMpk1 during stationary phase, including the development of CG. Mutants of MAPK, MAPKK and MAPKKK are unable to present CG. This inability likely relies upon an incorrect activation of PaMpk1, although this MAPK is normally phosphorylated in the mutants. In PaMpk2 null mutants, hyphae are abnormal and PaMpk1 is mislocalized. Correspondingly, stationary phase differentiations controlled by PaMpk1 are defective in the mutants of the PaMpk2 cascade. Constitutive activation of the PaMpk2 pathway mimics in many ways its inactivation, including an effect on PaMpk1 localization. Inactivation of the third *P. anserina* MAPK pathway has no effect on the development of the fungus. Our data underscore the complex regulation of a prion-like element in a model organism.

[1] Kicka S, Bonnet C, Sobering AK, Ganesan LP, Silar P. (2006) A mitotically inheritable unit containing a MAP kinase module. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 103(36):13445-50

[2] Kicka S, Silar P. (2004) PaASK1, a mitogen-activated protein kinase kinase kinase that controls cell degeneration and cell differentiation in *Podospora anserina*. *Genetics*. 166(3):1241-52..

[3] Lalucque H, Malagnac F, Brun S, Kicka S and Silar P. Control of a MAPK-generated hereditary unit by a second MAPK pathway in *Podospora anserina*. *Soumis pour publication*.

**Keywords:** Regulatory inheritance, prion-like element, MAP Kinase, filamentous fungi, *Podospora anserina*

## Etude du rôle du monoxyde d'azote (NO) dans la réponse du transcriptome d'*Arabidopsis thaliana* aux oligogalacturonides, un éliciteur des réactions de défense

S. Jeandroz, S. Rasul, M. Borgeot, C. Fournier, D. Wendehenne

UMR AgroSup Dijon/CNRS/INRA/ U Bourgogne 17, rue Sully 21065 Dijon Cedex France

Le monoxyde d'azote (NO) est capable de réguler chez les plantes de nombreux processus physiologiques dont les réponses des plantes aux pathogènes. Peu d'informations sont disponibles aujourd'hui sur les mécanismes expliquant le rôle du NO endogène dans ce contexte physiologique. Grâce à une étude transcriptomique, nous avons caractérisé chez *Arabidopsis thaliana*, des gènes cibles du NO produit en réponse à un éliciteur des réactions de défense, les oligogalacturonides (OG). L'analyse a permis d'identifier parmi ces gènes cibles, un nombre important de gènes impliqués dans les réponses aux stress biotiques tels que des facteurs de transcription ou des protéines codant des récepteurs d'effecteurs ou d'éliciteurs. Une sur-représentation de motifs de liaisons pour des facteurs de transcription de la famille WRKY a également été observée dans les régions promotrices des gènes. Une étude fonctionnelle de plusieurs gènes candidats, réalisée grâce à l'utilisation de plantes mutantes, a permis de révéler le rôle de ces gènes dans la modulation de la résistance au champignon *Botrytis cinerea*. Certains facteurs de transcription régulés par le NO de manière transcriptionnelle pourraient moduler l'expression d'autres gènes cibles nécessaires à l'établissement des réactions de défense des plantes. L'ensemble de ces résultats nous permet de mieux comprendre les mécanismes liant la production de NO, ses effets et la résistance d'*A. thaliana* à *B. cinerea*, confirmant ainsi que le NO est un élément-clé des réactions de défense des plantes.

*Mots clés* : monoxyde d'azote, gènes cibles du NO, facteurs de transcription, *Arabidopsis thaliana*, oligogalacturonides, *Botrytis cinerea*



## Expression, localisation et dégradation des deux protéines PR majoritaires de la baie de raisin au cours de l'infection par *Botrytis cinerea*

S. Colas, J. Crouzet, C. Clément, F. Baillieul, F. Mazeyrat-Gourbeyre, L. Monti-Dedieu

Université de Reims Champagne-Ardenne, Laboratoire de Stress, Défenses et Reproduction des Plantes, URVVC-SE EA 2069, UFR Sciences Exactes et Naturelles, Moulin de la Housse, BP 1039, 51687 Reims Cdx 2

Chez la vigne, deux protéines PR (Pathogenesis-Related), une chitinase (CHV5) et une thaumatine-like (TL), s'accumulent constitutivement dans les baies au cours de la maturation [1,2]. Cependant malgré l'observation d'un effet anti-botrytique de ces protéines *in vitro* [2,3], le champignon est capable de se développer sur des baies mûres. L'objectif de ce travail est d'étudier, par hybridation *in situ* et immunohistochimie, les variations d'expression spatio-temporelle des ARNm et des protéines de CHV5 et TL, au cours de la maturation, suite à des stress abiotique (UV-C) et biotique (*B. cinerea*). Dans la baie mûre non traitée, les ARNm comme les protéines CHV5 et TL s'accumulent au niveau de l'exocarpe et autour de tous les faisceaux conducteurs. Après une irradiation aux UV-C de baies au stade pré-véraison, une accumulation des ARNm de CHV5 et TL est observée au niveau de l'exocarpe, ainsi qu'autour de tous les faisceaux conducteurs. Les protéines correspondantes sont localisées aux mêmes sites avec cependant une faible accumulation autour des faisceaux conducteurs du centre de la baie. Dans des baies mûres naturellement infectées par *B. cinerea*, les ARNm de CHV5 et TL, comme les protéines, diminuent au cours de l'infection. A un stade précoce d'infection, la diminution des deux protéines est observée en avant du front de propagation du champignon, suggérant une dégradation par des protéases sécrétées par le champignon [4] A un stade d'infection plus avancé, cette diminution s'étend à l'ensemble de la baie. La production hétérologue de ces 2 protéines nous a permis de confirmer que CHV5 pouvait être dégradée par le sécrétome de *B. cinerea* à l'inverse de TL. Ces résultats suggèrent donc qu'il existe différents mécanismes de dégradation des 2 protéines de défense. L'utilisation de mutants fongiques présentant une activité protéase réduite [5] permettra de préciser si ces enzymes sont impliquées dans le processus de dégradation. Le fait que ces protéines PR soient exprimées naturellement au cours de la maturation permet d'envisager qu'elles possèdent des fonctions autres que celles impliquées dans la défense. Afin d'évaluer le rôle de ces protéines dans la défense et le développement, la transformation de plants de vigne sur- ou sous-exprimant ces deux gènes est en cours de réalisation.

[1] Derckel JP, Audran JC, Haye B, Lambert B, Legendre L (1998) *Physiology Plantarum* 104, 56-64.

[2] Davies C and Robinson SP (2000) *Plant Physiology* 122, 803-812.

[3] Monteiro S, Barakat M, Piçarra-Perreira MA, Teixeira AR, Ferreira RB (2003) *Phytopathology* 93, 1505-1512.

[4] ten Have A, Dekkers E, Kay J, Phylip LH, van Kan JAL (2004) *Microbiology* 150, 2475-2489.

[5] ten Have A, Espino JJ, Dekkers E, Van Sluyter SC, Brito N, Kay J, Gonzalez C, van Kan JAL (2010) *Fungal Genetics and Biology* 47, 53-65.

*Mots-clés* : vigne, protéines PR, chitinase, thaumatine-like, maturation, UV-C, *B. cinerea*

## Rôle des Glutathion-S-transférases fongiques dans la protection contre les métabolites de défenses des Brassicacées

B. Calmes, P. Simoneau, E. Scaon, N. Bataillé-Simoneau, T. Guillemette

IRHS équipe FungiSem, Université d'Angers-INRA-Agrocampus Ouest, 2 Bd Lavoisier 49045 Angers, France

L'induction par un hôte d'un stress oxydatif chez un parasite représente l'une des stratégies de défense chimique les plus répandues. Chez les Brassicacées, ce stress peut être généré non seulement par le burst oxydatif qui fait suite à l'infection mais aussi par des molécules issues du métabolisme secondaire de la plante telles que les isothiocyanates (ITC) [4]. Bien que fortement exposé à un tel stress lors de l'infection, *Alternaria brassicicola*, champignon nécrotrophe inféodé aux Brassicacées, est capable d'accomplir son cycle parasitaire et donc de s'y adapter. Une des stratégies de protection possible du champignon contre ce type de stress pourrait consister à agir directement par détoxification des métabolites potentiellement oxydants. L'analyse du transcriptome d'*A. brassicicola* cultivé en présence d'Allyl-ITC (Al-ITC) a permis de mettre en évidence la surexpression de 6 EST codant des enzymes de type glutathion S-transférases (GST) putatives [3,4]. Cette famille d'enzymes est connue pour être impliquée dans des mécanismes de détoxification de xénobiotiques [1]. L'analyse *in silico* des séquences protéiques déduites de ces EST, a montré qu'elles se répartissent dans 5 grandes familles de GST : Cluster 1 et 2, Omega, MAPEG et GTE [2]. Six simples mutants disruptés respectivement dans les six gènes codant les GST sélectionnées ont été générés. Certains présentent une sensibilité accrue aux Al-ITC mais aussi à la brassinine. Des études réalisées à l'aide de sondes fluorescentes spécifiques des Formes Actives d'Oxygène (FAO) montrent que cette phytoalexine possède elle aussi une activité oxydante sur les cellules fongiques. Les mutants nuls hypersensibles à ces métabolites de défense sont toujours virulents mais se caractérisent par une forte baisse de leur agressivité *in planta*. Ces résultats mettent en évidence que la tolérance du champignon aux stress oxydatifs est partiellement dépendante de la détoxification des dérivés du métabolisme secondaire des Brassicacées par certaines GST.

[1] Dixon KP, Xu JR, Smirnoff N, Talbot NJ (1999) Independent signaling pathways regulate cellular turgor during hyperosmotic stress and appressorium-mediated plant infection by *Magnaporthe grisea*. *Plant Cell*, 11(10):2045-2058.

[2] McGoldrick S, O'Sullivan SM, Sheehan D (2005) Glutathione transferase-like proteins encoded in genomes of yeasts and fungi: insights into evolution of a multifunctional protein superfamily. *FEMS Microbiol Lett*. 242(1):1-12.

[3] Sellam A, Poupard P, Simoneau P (2006) Molecular cloning of AbGst1 encoding a glutathione transferase differentially expressed during exposure of *Alternaria brassicicola* to isothiocyanates. *FEMS Microbiol Lett*, 258(2):241-249.

[4] Sellam A, Dongo A, Guillemette T, Hudhomme P, Simoneau PS (2007) Transcriptional responses to exposure to the brassicaceous defence metabolites camalexin and allyl\_isothiocyanate in the necrotrophic fungus *Alternaria brassicicola*. *Molecular Plant pathology* 8(2), 195-208.

*Mots-clés* : Glutathion-S-Transférases, pouvoir pathogène, stress oxydatif, métabolites antifongiques, *Alternaria brassicicola*

**Potentialisation des réponses de défense par le phosphite chez *Arabidopsis thaliana* infecté par *Hyaloperonospora arabidopsidis***

K. Massoud (1), T. Barchietto (2), T. Le Rudulier (1), L. Pallandre (1), L. Didierlaurent (1), M. Garmier (1), F. Ambard-Bretteville (1), J-M. Seng (1,2), **P. Saindrenan** (1)

(1) Institut de Biologie des Plantes, CNRS-Université Paris-Sud 11, UMR 8618, Bâtiment 630, 91405 Orsay Cedex, France

(2) BIOtransfer, 41 rue Emile Zola, 93100 Montreuil, France

Le phosphite (Phi), un oxyanion de l'acide phosphoreux ( $H_3PO_3$ ), protège les plantes contre les maladies provoquées par les oomycètes. Son mode d'action est actuellement inconnu bien qu'un certain nombre d'évidences indique d'une part un effet antibiotique direct sur les agents pathogènes, et d'autre part une inhibition faisant intervenir les réponses de défense des plantes. Nous avons démontré que l'oomycète biotrophe obligatoire *Hyaloperonospora arabidopsidis* (*Hpa*) répond au Phi selon une dose-réponse biphasique après inoculation d'*Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*), présentant les caractéristiques d'une activité indirecte à faibles doses et d'une inhibition directe à doses élevées. L'effet de faibles doses de Phi sur l'infection par *Hpa* a été supprimé chez des mutants déficients en acide salicylique (SA) et des mutants affectés dans la signalisation par le SA. L'activité du Phi n'est pas perturbée chez des mutants compromis dans la signalisation dépendante du jasmonate, de l'éthylène et de l'acide abscissique, ainsi que dans l'accumulation de formes activées de l'oxygène et des phytoalexines, camalexine et scopolétine. Les faibles doses de Phi potentialisent l'accumulation du SA et des transcrits du gène *PRI*, et mobilisent deux composantes essentielles de la résistance basale, EDS1 et PAD4, suite à l'infection. Comparée à des plantes inoculées et non traitées, l'accumulation et la phosphorylation d'une MAP kinase spécifique régulant négativement la réponse immune, est réduite chez les plantes traitées par de faibles doses de Phi. Nous proposons que le Phi régule négativement la voie MAP kinase, et potentialise les réponses de défense suite à l'infection par *Hpa*.

*Mots clés* : Potentialisation, phosphite, *Arabidopsis*, *Hyaloperonospora arabidopsidis*

## Caractérisation du gène *cyp684* responsable de la résistance au fenhexamid chez l'espèce *Botrytis pseudocinerea*

S. Azeddine, A. Billard, P. Solignac, J. Bach, C. Lanen, D. Debieu, S. Fillinger

INRA UR1290 BIOGER-CCP, Avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval-Grignon

La pourriture grise est une maladie qui affecte la vigne et de nombreuses autres cultures. Elle est provoquée par un complexe fongique incluant deux espèces caractéristiques *Botrytis cinerea* et *Botrytis pseudocinerea*. Les deux espèces morphologiquement indistinguables peuvent être différenciées par leur sensibilité à certains fongicides notamment au fenhexamid. Le fenhexamid est l'un des fongicides les plus récents utilisé pour contrôler la pourriture grise. Il appartient à la famille des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (IBS), il inhibe la 3-céto réductase intervenant dans les étapes de la C-4 déméthylation des stérols. Dans ce complexe, *B. cinerea* est l'espèce majoritaire. Elle est sensible au fenhexamid. En revanche, certains individus ont acquis de la résistance suite à l'utilisation du fenhexamid dû à une mutation de la cible. *B. pseudocinerea* est naturellement résistante au fenhexamid. Des études ont montré un effet synergique fort entre le fenhexamid et une autre classe d'IBS, les inhibiteurs de Cyp51 codant la 14 $\alpha$ -déméthylase qui intervient dans le métabolisme endogène. Nous avons émis l'hypothèse que le mécanisme de la résistance implique une protéine similaire à la protéine Cyp51 capable de métaboliser le fenhexamid chez *B. pseudocinerea*. Le gène le plus similaire au gène *cyp51* nommé *cyp684* a été délété chez *B. pseudocinerea* se traduisant par la perte de la résistance et de la capacité à métaboliser le fenhexamid. Ces résultats montrent que le gène *cyp684* est impliqué dans la résistance au fenhexamid chez *B. pseudocinerea*. Chez *B. cinerea* sensible au fenhexamid, le gène *cyp684* est également présent. La comparaison des deux séquences génomiques du gène *cyp684* entre les deux espèces a révélé plusieurs polymorphismes : i) la région promotrice du gène *cyp684* chez *B. pseudocinerea* se caractérise par une délétion de 25pb. ii) l'alignement des séquences peptidiques (Cyp684) a révélé la présence de plusieurs acides aminés différents entre les deux espèces. Ceci pourrait influencer l'activité intrinsèque de Cyp684 et/ou le profil d'expression du gène *cyp684* expliquant les différentes sensibilités entre les deux espèces.

*Mots clé* : Pourriture grise, *Botrytis cinerea*, Résistance, Fenhexamid, Fongicides, Cytochromes P450

## **Oral - Session 2 :**

### **Taxonomie, Phylogénie et Ecologie des Communautés**

## **Elucidating the genetic structure of populations of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota)**

**D. Redecker**

UMR Agroécologie INRA/Université de Bourgogne, Dijon, France

Arbuscular mycorrhizal fungi are ubiquitous mutualistic associates of plants. Only relatively recently it has become possible to study the population biology of some species of these fungi, which are placed in the phylum Glomeromycota. Some species-level taxa of the Glomeromycota seem to be extremely widespread. In particular, the model organism *Rhizophagus irregularis* (formerly known as *Glomus intraradices*) has been found across an extremely wide range of habitats and succession stages on different continents using molecular identification approaches. We have used regions of the mitochondrially-encoded rDNA as molecular markers to resolve the intraspecies structure of this species and found a high diversity of mitochondrial haplotypes among isolates from all over the world. These markers for the first time also allow to genotype glomeromycotan fungi directly within colonized roots. Using this approach, we found a surprisingly high degree of genetic differentiation of *G. intraradices* among arable sites in Switzerland. Grasslands showed a completely different set of haplotypes compared to arable sites. Mitochondrial rDNA also proved to be a useful marker to verify inoculation success in the context of the application of arbuscular mycorrhizal fungi in biotechnology, which might contribute to sustainable land use in the future. These findings will be presented in the context of other recent work addressing the structure of glomeromycotan populations.

## **Distribution de la diversité ectomycorhizienne à l'échelle régionale : effet du régime des précipitations dans les écosystèmes méditerranéens dominés par le chêne vert**

**O. Shahin**, N. Martin, S. Rambal, F. Richard

UMR 5175, CEFÉ-CNRS, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5

La compréhension des facteurs à l'origine de l'étonnante diversité fongique ectomycorhizienne (ECM) à l'échelle locale constitue une question de recherche de tout premier ordre en écologie des communautés. Dans ce travail, nous avons examiné le rôle des gradients climatiques naturels dans la structuration des communautés ECM associées au chêne vert (*Q. ilex*) dans la région méditerranéenne continentale française. Le long d'un gradient naturel s'étendant de 600 à 1200 mm de précipitations annuelles, nous avons décrit les patrons locaux des communautés ECM dans trois taillis monospécifiques de 70 ans, en utilisant un ensemble d'outils morpho-anatomiques et de biologie moléculaire. Nos résultats ont mis en évidence que l'abondance des ectomycorhizes dans le sol est (i) positivement corrélée aux précipitations annuelles et (ii) répond négativement à l'augmentation de la profondeur dans le profil de sol. La richesse des communautés ECM, en revanche, apparaît insensible au régime de précipitations, alors qu'une analyse de similarité a montré un effet significatif du gradient hydrique sur la composition de ces mêmes communautés. Finalement, la richesse régionale apparaît majoritairement constituée de taxons rares, quelle que soit l'échelle considérée (locale vs. régionale). Notre étude contribue à une meilleure compréhension de la structuration de la diversité fongique ECM à l'échelle régionale, et permet de discuter de possibles pistes pour la conservation de ces organismes dans une région concernée par une réduction probable des précipitations annuelles dans les prochaines années.

Avis P.G., McLaughlin D.J., Dentinger B.C. and Reich P.B., 2003. Long-term increase in nitrogen supply alters above- and below-ground ectomycorrhizal communities and increases the dominance of *Russula* spp. in a temperate oak savanna. *New Phytologist* 160:239-253

Cavender-Bares J., Izzo A., Robinson R. and Lovelock C.E., 2009. Changes in ectomycorrhizal community structure on two containerized oak hosts across an experimental hydrologic gradient. *Mycorrhiza* 19:133-142

Richard F., Roy M., Shahin O., Sthultz Ch., Duchemin M., Joffre R. and Selosse M.A., 2011. Ectomycorrhizal communities in a Mediterranean forest ecosystem dominated by *Quercus ilex*: seasonal dynamics and response to drought in the surface organic horizon. *Annals of Forest Science* 68:57-68.

*Mots-clés* : communautés ectomycorhiziennes, forêts Méditerranéennes, *Quercus ilex*, changement climatique

## **Etude de la diversité fongique d'une mangrove par pyroséquençage massif de multiples marqueurs moléculaires**

**Y. Arfi (1), M. Buée (2), C. Marchand (3), A. Levasseur (1), E. Record (1)**

(1) INRA, UMR1163 - Biotechnologie des Champignons Filamenteux, ESIL, 163 avenue de Luminy, CP 925, 13288 Marseille Cedex 09, France

(2) INRA, UMR 1136 - Nancy Université, Interactions Arbres/Microorganismes, INRA Nancy, 54280 Champenoux, France

(3) IRD, UR 206/UMR 7590 IMPMC, Anse Vate, Nouméa 98800, Nouvelle Calédonie

Les mangroves sont des écosystèmes côtiers des régions tropicales et subtropicales du globe qui forment une interface entre les milieux terrestres et océaniques. Ces biotopes dynamiques abritent des plantes uniques de par leur capacité à pousser en présence de concentrations élevées en sels. Les mangroves ont une importance à la fois économique et écologique pour les régions alentours car elles protègent les côtes de l'érosion, servent de nurserie à de nombreuses espèces et supportent les réseaux trophiques océaniques en leur fournissant de grandes quantités de matière organique<sup>[1]</sup>. Les champignons joueraient un rôle important dans ce dernier processus en favorisant la transformation de la matière organique particulaire en matière organique dissoute<sup>[2]</sup>. A ce jour, les études de la colonisation fongique des mangroves se sont concentrées sur l'isolement et l'identification de champignons à partir de la zone intertidale des palétuviers<sup>[3]</sup> ou de débris et propagules flottants ou ensevelis dans les couches sédimentaires superficielles<sup>[4]</sup>. De ce fait, la diversité fongique sur les arbres vivants et notamment dans la phyllosphère est très peu connue, malgré son rôle potentiellement important dans ces écosystèmes. Afin d'améliorer nos connaissances de ces communautés, nous avons étudié et comparé la diversité fongique retrouvée dans la phyllosphère et la zone intertidale des palétuviers *Avicennia marina* et *Rhizophora stylosa*<sup>[5]</sup>, par une approche de pyroséquençage massivement multiparallèle (ou « 454 tag-pyrosequencing ») de marqueurs moléculaires issus des régions ITS1, ITS2 et SSU rRNA V5 et V7. L'analyse de près de 210 000 séquences nous a permis de mettre en lumière des communautés hyper diversifiées, contenant plusieurs milliers d'espèces différentes. Nos résultats indiquent aussi une très forte zonation des différentes communautés colonisant les différents micro-habitats de la mangrove, puisque la grande majorité des espèces observées sont spécifiques d'un hôte. Cet écosystème est dominé par des parasites et pathogènes Ascomycètes (82% des séquences) tandis que les Basidiomycètes sont quasiment absents (3% des séquences) et qu'une fraction importante des séquences (15%) correspond à des taxons inconnus. Enfin, notre étude démontre l'intérêt de l'utilisation de plusieurs marqueurs moléculaires dans les approches de type « Tag Pyrosequencing » afin d'améliorer la qualité de la description des communautés fongiques.

[1] Spalding MD, Blasco F, Field CD. 1997. International Society for Mangrove Ecosystems, Okinawa, Japan.

[2] Hyde KD, and Lee SY. 1995. *Hydrobiologia* 295: 107-118.

[3] Jones EBG, Sakayaroj J, Suetrong S, Somrithipol S, and Pang KL. 2009. *Fungal Diversity* 35: 1-187.

[4] Sarma VV, and Hyde KD. 2001. *Fungal Diversity* 8: 1-34.

[5] Arfi Y, Buee M, Marchand C, Levasseur A, Record E. 2011. *FEMS Microbiology Ecology*, In Press.



## **Diversité et structure des communautés fongiques associées au pin sylvestre le long de gradients altitudinaux en Europe**

**A. Rincón** (1), B. Santamaría-Pérez (1), A. Coince (2), B. Marçais (2), M. Buée (2)

(1) ICA-CSIC, Serrano 115 bis, 28006 Madrid, Spain

(2) UMR1136 INRA Nancy-Université, INRA-Nancy, IFR110, 54280 Champenoux, France

Pour de nombreux organismes, les relations entre gradients d'énergie et richesse des espèces ont été relativement bien documentées et étudiées en écologie des communautés. Par contre, très peu d'informations sont disponibles quant à l'impact de ces gradients sur les communautés fongiques du sol, et en particulier sur les champignons ectomycorhiziens (EM), qui sont des espèces clés dans le fonctionnement des forêts, de par leur implication dans la nutrition des arbres et la stabilité des écosystèmes. Dans le contexte avéré du changement climatique, nous avons cherché à évaluer dans quelle mesure les communautés fongiques associées au pin sylvestre (*Pinus sylvestris*), essence forestière eurasiatique majeure, pouvaient être structurées par les facteurs climatiques. Du sol et des racines mycorhizées ont été échantillonnés le long de trois gradients altitudinaux dans des forêts de pins espagnoles (Pyrénées, Guadarrama) et françaises (Vosges). A partir de ces échantillons, les ADN ont été extraits et la région ITS1 de l'ADN ribosomal nucléaire des champignons a été spécifiquement amplifiée par PCR en utilisant le couple d'amorces ITS1F/ITS2, taguées pour réaliser un séquençage haut débit de type 454 FLX. La structure et la diversité des communautés fongiques (champignons du sol et communautés ectomycorhiziennes) ont été décrites et analysées au travers des différents paramètres environnementaux. Pour chaque gradient altitudinal, les patterns d'assemblage des espèces EM évoluent selon l'altitude, en lien avec la température locale ou les conditions de précipitation. L'analyse de tous les sites révèle que le pH est la variable majeure qui structure significativement les communautés de champignons EM. Finalement, ces résultats seront comparés à ceux obtenus à partir d'études similaires (coll. INRA de Bordeaux) réalisées dans des forêts de hêtre.

*Mots-clés* : champignons ectomycorhiziens, pin sylvestre, diversité, gradients altitudinaux

## **The impact of an alpine cushion plant on fungal and bacterial assemblages**

**J. Roy (1)**, C-H. Albert (1§), P. Choler (1), (2), J-C. Clément (1), S. Ibanez (1), (2£), Lavergne S (1), Saccone P (1), Zinger L (1), Geremia R A (1)

(1) Laboratoire d'Ecologie Alpine, UMR CNRS-UJF 5553, Université de Grenoble, BP 53, 38041 Grenoble cedex 09, France

(2) Station Alpine J. Fourier, UMS CNRS-UJF 3370, Université de Grenoble, BP 53, 11 38041 Grenoble cedex 09, France

§ Present affiliation: Department of Biology, McGill University, Stewart Biology Building, Room W3/26, 1205 Docteur Penfield, Montreal, Quebec H3A 1B1, Canada

£ Present affiliation: Swiss Federal Research Institute WSL, Ecosystem Boundaries Research Unit, CH-6500 Bellinzona, Switzerland

The effect of one single plant on fungal community assembly, and how this effect varies along environmental gradients remain poorly understood, especially in extreme environments. Here, we assessed fungal beta diversity (i.e. change of community composition and structure) in alpine rocky cliff ecosystems by means of molecular fingerprints. Fungal communities were compared inside and outside a cushion like forming plant, *Silene acaulis*, in sites contrasting in their bedrock (calcareous and siliceous) and distributed along an elevational gradient. Resulting patterns were ultimately compared to bacterial ones. We show that plant consistently affects fungal and bacterial community structure through the modification of the abiotic environment, namely soil pH for Bacteria, and soil organic compounds and water availability for Fungi. Indeed, by buffering soil pH, the plant reduces the influence of bedrock (and thus soil pH) in bacterial community structure. In contrast, fungal communities within cushion strongly respond to the elevation, corresponding to an increase of C and water content in cushions, whereas communities outside the cushion do not respond to environmental variables. Furthermore, our results suggest that the effect of cushion on microbial assemblages positively depends on the magnitude of environmental modification caused by cushions, ultimately depending of the environmental context. As cushions are typical ecosystem engineers, modifying their surrounding abiotic and biotic context, our results extend theory on ecosystem engineering, so far evidenced for macroorganisms, to soil fungi and bacteria. They further show that this process results from distinct soil characteristics modifications for fungi and bacteria.

*Keywords:* fungal community, beta diversity, *Silene acaulis*, CE-SSCP, ecosystem engineering, environmental gradients

## **Analyse bioinformatique des données de métagénomique fongique**

**L. Brigitte** (1,2), J. Amselem (1,2), N. Lapalu (1,2), A. Gautier (2), J. Vallance (3), E. Bruez (3), P. Rey (3), H. Quesneville (1), V. Laval (2), M-H Lebrun (2)

(1) INRA, URGI, Versailles, France

(2) INRA, BIOGER, Thiverval Grignon, France

(3) INRA, Santé Végétal, Bordeaux, France

Nous avons développé des méthodes d'analyse de données de métagénomique fongique en prenant comme modèle d'étude les maladies du bois de la vigne. L'ESCA, le BDA (Black Dead Arm) et l'eutypiose sont les principales maladies du bois de la vigne qui provoquent la dégénérescence de nombreux céps. La lutte contre ces maladies nécessite de mieux connaître l'ensemble des espèces fongiques qui leur sont associées. Notre approche repose sur l'identification des espèces fongiques par le séquençage haut débit (Roche 454) des ITS (Internal Transcribed Spacer) fongiques d'échantillons environnementaux. Ces séquences présentent une forte hétérogénéité inter-espèce et intra-espèce et sont donc de bons barcodes du règne fongique. Leur analyse bioinformatique repose sur l'utilisation d'un pipeline d'analyse métagénomique mis en place à l'URGI et sur une base de données d'ITS fongiques issues d'une curation des données du NCBI [1]. Ce pipeline est basé sur un ensemble de programmes permettant de traiter les séquences et d'en extraire les ITS afin de contourner le problème des erreurs de séquençage. Ces données sont ensuite soumises à une suite d'outils QIIME [2] qui permet la détection d'OTUs (Operational Taxonomic Unit) et une assignation taxonomique des séquences obtenues. La base de données d'ITS de champignons est constituée de séquences ITS1, ITS2 complètes ou encore de la région ITS1-2,8S-ITS2. Cette analyse montre l'intérêt et les limites du pyroséquencage de produits de PCR de régions génomiques et l'importance de méthodes d'analyse bio-informatique adaptées pour extraire l'information de ce type de séquençage.

[1] Nilsson RH *et al.* 2010. An open source software package for rapid, automated extraction of *ITS1* and *ITS2* from fungal *ITS* sequences for use in high-throughput community assays and molecular ecology. *Fungal Ecology*, 3: 284-287

[2] Caporaso JG *et al.* 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods* 7: 335-336

*Mots-clés* : maladie du bois de la vigne, internal transcribed spacer, pipeline, métagénomique

## **Une comparaison des métatranscriptomes eucaryotes de deux sols alpins**

T. Mustafa, P. Choler, A. Monier, E. Coissac, L. Zinger, R. A. Geremia, **J-M. Bonneville**

Laboratoire d'Ecologie Alpine, Grenoble. <http://www-leca.ujf-grenoble.fr>

La couverture neigeuse est un facteur clé de la diversité et du fonctionnement des écosystèmes alpins. Les toundras à faible enneigement (ESM, early snow melt) présentent une végétation dite conservative, à croissance lente, adaptée à des stress multiples ; elles contrastent avec les prairies à fonte des neiges tardive (LSM, late snow melt), qui abritent des plantes à croissance rapide, exploitatrices<sup>1</sup>. Les sols ESM contiennent plus de matière organique que les sols LSM et hébergent des communautés bactériennes et fongiques distinctes<sup>2</sup>. Dans une approche pilote du fonctionnement de ces sols, et dans le cadre de l'ANR EUMETASOL, nous avons utilisé la métatranscriptomique pour évaluer les fonctions codées par les communautés eucaryotes. Nous avons extrait les ARN totaux à partir des sols LSM et ESM, converti l'ARN polyA+ en ADNc, et séquencé des amplicons générés par PCR aléatoire en utilisant la technologie Roche 454. Ceci a donné, après élimination des reads courts et de l'ARNr, deux bibliothèques de ~ 40 000 séquences potentiellement codantes, de ~ 400 nt longueur, dont 38% codent pour une protéine identifiable par la combinaison de la base SwissProt et des pipelines d'annotation MG-RAST et Blast2GO. La contribution taxonomique la plus importante, reconstituée à partir de plusieurs groupes de protéines, provient des champignons, mais des séquences végétales et animales ont également été fréquemment détectées. Entre 600 et 900 enzymes ont été répertoriées pour chaque sol. Les protéines ribosomales, ainsi que les ubiquitine ligases, sont sous-représentées en ESM, ce qui suggère que la traduction et la dégradation des protéines y sont moins actives. Huit enzymes du métabolisme du glucose sont sous-représentées en ESM, mais trois sont surreprésentées : les deux groupes se placent sur des voies métaboliques divergentes. Ceci suggère que le sol ESM hydrolyse essentiellement de la cellulose et convertit une partie du glucose en des composés de résistance au stress, tandis que le sol LSM produit davantage son glucose par hydrolyse de l'amidon et l'utilise directement dans la glycolyse et le cycle de Krebs. Conjointement, ces observations esquissent un syndrome moléculaire de lente consommation d'énergie cellulaire dans le sol ESM, qui est en concordance avec les traits aériens des plantes ESM conservatrices. La métatranscriptomique des sols pourrait être une voie prometteuse pour analyser les interactions moléculaires entre plantes et champignons.

<sup>1</sup> F. Baptist, N. Yoccoz, and P. Choler, *Plant and Soil* 328 (1), 397 (2010)

<sup>2</sup> L. Zinger, B. Shahnava, F. Baptist *et al.*, *The ISME journal* 3, 850 (2009)

**Oral - Session 3 :**

**Génomique des Champignons**

## **Explorer la diversité des CAZomes fongiques**

**B. Henrissat** (1), P. Coutinho (1), V. Lombard (1), C. Rancurel (1), E. Drula (1), B. Cantarel (2), E. Danchin (3)

(1) Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques, Aix-Marseille Université, CNRS, UMR 6098, Case 932, 163 Avenue de Luminy, 13288 Marseille cedex 9

(2) Institute for Genome Sciences, University of Maryland, School of Medicine, Baltimore, MD 21201, USA

(3) UMR IBSV INRA-UNS-CNRS, Pôle Santé des Plantes, 400 route des Chappes, BP 167, 06903 Sophia-Antipolis cedex

L'acronyme CAZymes regroupe l'ensemble des enzymes assurant l'assemblage et la déconstruction des glycoconjugués, oligo et polysaccharides. En raison de la diversité très large des structures glucidiques, il existe une diversité équivalente de CAZymes qui forment des familles distinctes, corrélant avec la structure, le mécanisme et parfois la spécificité de substrat (la classification en familles des CAZymes est disponible sur [www.cazy.org](http://www.cazy.org)). Chez les champignons les CAZymes sont impliquées dans des fonctions diverses : utilisation des glucides comme source de carbone, synthèse et turn-over de la paroi fongique, stockage de l'énergie, glycoprotéines, lutte contre les pathogènes, etc. L'analyse du génome permet de dresser le profil en CAZymes d'un champignon et avec plus de 150 génomes fongiques disponibles, il est possible de comparer ces profils pour examiner le lien entre CAZome et mode de vie.

*Mots-clés* : champignons, génomique, carbohydate-active enzymes, évolution, mode de vie

## Are transposable elements drivers of effector birth and diversification in *Leptosphaeria* species?

J. Grandaubert (1), M.H. Balesdent (1), H. Borhan (2), M. Links (2) and T. Rouxel (1)

(1) INRA-Bioger, Grignon, France

(2) AAF Saskatoon, Canada

*Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa* are part of a species complex of fungal pathogens of crucifers. The genomes of two *L. maculans* 'brassicae' (Lmb) isolates (45.12 Mb, assembled into 76 scaffolds and 44.16 Mb assembled into 986 scaffolds, respectively) have an unusual bipartite structure - alternating distinct GC-equilibrated and AT-rich blocks of homogenous nucleotide composition. The AT-rich blocks comprise one third of the genome and contain effector genes and families of transposable elements (TEs), postulated to have recently invaded the genome, both of which are affected by Repeat Induced Point mutation. In silico comparison of the Lmb genomes with that of *L. maculans* 'lepidii' (31.53 Mb, assembled into 123 scaffolds), *L. biglobosa* 'thlaspii' (32.10 Mb, assembled into 237 scaffolds) and *L. biglobosa* 'brassicae' (31.8 Mb, assembled into 606 scaffolds), shows these species have a much more compact genome with a very low amount of TEs (<4%). In addition some recently expanded TE families are specific of *L. maculans* isolates. Compared to the Lmb genomes, only 15% of the effector genes and 45% of other genes in AT-blocks are present in the other genomes, suggesting TEs were key players in gene innovation and that the genome environment promoted rapid sequence diversification and selection of genes involved in pathogenicity.

## Génomique comparative de la spécificité parasitaire de *Phytophthora parasitica*

### F. Panabières (1), *P. parasitica* Genome Initiative (PPARGI) (2)

- (1) UMR 1301 INRA-CNRS- UNS Interactions Biotiques et Santé Végétale (IBSV), Equipe Interactions Plantes Oomycètes (IPO), Centre INRA PACA, 06903 Sophia Antipolis, France
- (2) PPARGI : UMR 1301 INRA-CNRS- UNS, France ; Virginia Bioinformatics Institute (VBI), Virginia Tech, USA ; Broad Institute, MIT, USA ; Northwest Agricultural & Forestry University, Yangling, China ; Centro APTA Citros Sylvio Moreira, Sao Paulo, Brazil

Oomycetes constitute a group of eukaryotic microorganisms that live as saprophytes or pathogens of plants, animals and microorganisms. Among them, plant pathogens of the genus *Phytophthora* cause devastating diseases and limit agriculture worldwide. They display diverse lifestyles, and their host range varies from a single host to thousands of plant species. Few oomycete genomes have been sequenced, among which 4 *Phytophthora* species, and vary in size and content, ranging from 43 Mb to 240 Mb. These sequencing projects yield dramatic insights into the mechanisms of pathogenicity, but the sequenced species are narrow host range pathogens, or have limited genetic tools. *Phytophthora parasitica* is a very broad host range pathogen that attacks numerous crops, including solanaceous plants, cocoa and citrus, a wide variety of fruit trees, nursery and ornamental plants. While *P. parasitica* as a species has a very broad host range, many isolates are pathogenic to a single, or a restricted number of hosts. So, comparing at the genome level several *P. parasitica* isolates with various origins will give clues to understand mechanisms underlying host specificity. We generated a whole genome shotgun sequence assembly (scaffold length: 72 Mb, sequence coverage ~ 111x) of a broad host range *P. parasitica* isolate as a reference sequence. Genome annotation is ongoing, through the combination of computational and evidence-based methods, using diverse sources of Sanger, 454 and RNA-Seq based datasets. To date, paired-end sequencing was performed on the genomes of 5 additional *P. parasitica* strains from various hosts (> 45x, 75 bPE). Data are currently assembled and will be annotated before comparison to the reference sequence. The project also includes SNP calling on at least 8 additional strains. Comparison of the genome sequences of these isolates will address fundamental questions about the mechanisms underlying the emergence and evolution of specific gene families (including effectors) and will assist in identifying genes associated with general pathogenicity and host specificity on some of the most important agricultural hosts of *P. parasitica* (tomato, tobacco and citrus). Comparing the genome of *P. parasitica* with those of the sequenced *Phytophthora* species (having either a narrow or a broad host range) will significantly expand our understanding of the mechanisms of evolution of host range, and increase our knowledge on speciation processes in the genus *Phytophthora*.

Mots-clés : *Phytophthora parasitica*, evolution, host range, virulence



## L'analyse comparative des génomes mitochondriaux de plusieurs souches de *Glomus irregulare* montre une corrélation entre variabilité mitochondriale et nucléaire

D. Formey (1), M. Molès (1), A. Haouy (1), B. Savelli (1), O. Bouchez (2), G. Bécard (1), C. Roux (1)

(1) Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales (LRSV) UMR 5546 UPS/CNRS, Pôle de Biotechnologies Végétales 24 chemin de Borde Rouge B.P. 42617 Auzeville 31326 CASTANET-TOLOSAN, France

DF est financé par Agronutrition dans le cadre d'une convention CIFRE

(2) Plateforme Génomique, Campus INRA Chemin de borderouge 31326 CASTANET-TOLOSAN, France

*Glomus irregulare* DAOM197198 est la souche fongique modèle pour l'étude de la symbiose endomycorhizienne à arbuscules. Depuis 2005, un projet de séquençage tente de décrypter son génome [1]. La difficulté à reconstituer ce dernier est liée, d'une part, aux estimations contradictoires de la taille de son génome (5 à 150Mb, voir [2]), et d'autre part, au polymorphisme de séquences observé chez ces organismes coenocytiques multinucléés [3,4]. En parallèle du programme de séquençage du génome nucléaire de la souche DAOM197198, le génome mitochondrial de la souche 494 a été séquencé, assemblé et annoté [5]. *A contrario* du génome nucléaire, le génome mitochondrial de *Glomus irregulare* est stable au sein d'une souche et variable entre les souches [6]. Dans l'objectif d'identifier des zones propices au typage de souches, nous avons séquencé, par pyroséquençage 454, les génomes mitochondriaux de quatre souches de *Glomus irregulare*. La recherche du polymorphisme à l'échelle du SNP confirme l'homogénéité intrasouche du génome mitochondrial, se distinguant du polymorphisme nucléaire. Cette homogénéité suggère des mécanismes de tri mitochondrial lors des fusions d'hyphes déjà observés entre souches. L'analyse comparative des génomes des 4 souches étudiées, en comparaison avec la souche 494, montre une conservation du set de gènes et une forte similarité des séquences codantes. *A contrario*, les régions intergéniques ont un fort polymorphisme, entre les génomes des différentes souches, dû à trois types d'éléments générateurs de variabilité. Ces régions sont propices à la définition de marqueurs moléculaires pour le typage des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) à l'échelle de la souche, permettant ainsi de répondre aux problématiques auxquelles sont confrontées les communautés étudiant les échanges génétiques chez ces champignons, ainsi que les entreprises productrices de biofertilisants contenant des spores de CMA. La comparaison des génomes mitochondriaux aboutit également à la distinction de sous-groupes, entre souches, au sein de l'espèce *G. irregulare*. Ces sous-groupes corrélerent avec ceux obtenus par comparaison des profils génétiques grâce à des marqueurs microsatellites nucléaires. Cette convergence entre génomes mitochondriaux et génomes nucléaires soulève de nouvelles hypothèses quant à la biologie de ces champignons, à la sexualité cryptique.

[1] Martin F *et al.* 2008. *New Phytol* 180:747-750

[2] Sedziewska KA *et al.* 2011. *New Phytol* 192:794-797

[3] Sanders IR *et al.* 1995. *New Phytol* 130: 419-427

[4] Kuhn G *et al.* 2001. *Nature* 414:745-748

[5] Lee J and Young JP. 2009. *New Phytol* 183:200-211

[6] Börstler B *et al.* 2008. *New Phytol* 180:452-465

**Mots-clés :** Génomes mitochondriaux, *Glomus irregulare*, Eléments générateurs de variabilité, comparaisons intersouches, typage moléculaire.

## Génomique comparative des champignons : Existe-t-il des réorganisations génomiques associées à l'évolution des stratégies infectieuses ?

M-H. Lebrun

BIOGER, INRA, Thiverval-Grignon, France - Bluegen : <http://www.blugen.org/> ; Bc/Ss consortium : <http://urgi.versailles.inra.fr/Species/Botrytis/Consortium>

L'accès à un nombre croissant de génomes de champignons pathogènes permet de réaliser des analyses comparatives entre espèces ayant des stratégies infectieuses différentes, en particulier des espèces apparentées comme *Blumeria graminis* (Bg), *Sclerotinia sclerotiorum* (Ss) et *Botrytis cinerea* (Bc). Ainsi Bc et Ss sont des nécrotrophes à large spectre d'hôte, tandis que les oïdiums tel que Bg sont des champignons obligatoires biotrophes spécialisés. Les génomes de Bg et des autres oïdiums présentent une invasion massive de transposons (TE) associée à une augmentation de la taille de leur génome (120-150 Mb) par rapport aux espèces apparentées (40 Mb). Cette augmentation de la taille du génome est associée à une perte importante de gènes (-55%) par rapport aux autres espèces fongiques. Les gènes perdus par Bg correspondent à des catégories particulières indépendantes du métabolisme primaire qui est intact. Ainsi, Bg ne possède que 2 gènes encodant des protéines du métabolisme secondaire (1 sidérophore, 1 voie de biosynthèse de pigment) alors que la plupart des autres champignons en possèdent 300 (20 à 50 voies de biosynthèse). Cette perte extrême en gènes du métabolisme secondaire (M2) ne se retrouve que chez les autres biotrophes (rouilles) et chez les symbiotes ascomycètes (truffe). Ainsi, ces champignons semblent avoir perdu la capacité à produire des métabolites secondaires (phytotoxines, antibiotiques) hormis ceux nécessaires à leur survie. De manière similaire, Bg et les biotrophes ne possèdent que très peu de gènes encodant des enzymes de dégradation des parois (CAZY), des protéases et des lipases par rapport aux autres champignons. Ces pertes de gènes suggèrent qu'ils ont été contre-sélectionnés lors de l'évolution (relativement récente) vers la biotrophie. Au contraire, certaines familles de gènes de Bg comme les transporteurs ou les effecteurs (248 effecteurs et 1350 AVRk/a) sont en nombre équivalent ou supérieurs à ceux des autres champignons (400-800) suggérant que ces gènes ont un rôle important dans la biotrophie. Ces schémas évolutifs qui correspondent à des pertes sélectives de familles de gènes (M2, CAZY) associées à des expansions (transporteurs, effecteurs) ne sont retrouvés que chez les autres champignons biotrophes comme les rouilles. Ainsi, l'évolution vers la biotrophie aurait conduit à des réorganisations génomiques (expansion de TE, perte sélective de familles de gènes) similaires chez les champignons aussi différents que les oïdiums et les rouilles.

Spanu PD, Abbott JC, Amselem J, Burgis TA, Soanes DM, Stüber K, Ver Loren van Themaat E, et al. 2010. Genome expansion and gene loss in powdery mildew fungi reveal functional tradeoffs in extreme parasitisms. *Science*. 330, 1543-46

Amselem J., Cuomo C.A., Van Kan J.A.L., Viaud M., et al. 2011. Genomic analysis of the necrotrophic fungal pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. *PLOS Genetics*. 7:e1002230

*Mots-clés* : Génomique comparative, évolution des génomes, biotrophie

**Oral - Session 4 :**

**Génétique et Evolution des Populations**

## Tracking evolution in a natural plant-pathogen metapopulation

A-L. Laine, H. Susi, A. Tack, C. Tollenaere

Metapopulation Research Group, University of Helsinki, Department of Biosciences, PO Box 65, FI-00014 University of Helsinki, Finland

Variation in host resistance and in the ability of pathogens to infect and grow (i.e. pathogenicity) is the raw material for antagonistic coevolution. Surprisingly little is known about overall patterns in the frequency and scale of variation in pathogenicity, particularly in natural systems. We reviewed 32 distinct host-pathogen systems to demonstrate that variation in pathogenicity is ubiquitous across spatial and temporal scales. The magnitude of within-population variation in pathogenicity is large relative to among-population variation, and only partly mirrors the distribution of host resistance. Our results support the emerging paradigm that environmental variation contributes to the maintenance of variation in pathogenicity. The interaction between *Plantago lanceolata* and its obligate powdery mildew, *Podosphaera plantaginis*, is an ideal system to study how evolutionary trajectories of obligate pathogens are influenced by spatial structure and environmental variation. Situated in the SW archipelago of Finland, this large natural pathosystem comprises over 4000 host populations where the occurrence of the pathogen has been recorded since year 2001. Every year only ~5% of the host populations are infected, and regionally the pathogen persists as a metapopulation with frequent extinction and colonization events of local host populations. Despite rapid turnover of local pathogen populations, they are diverse and show evidence of local adaptation. Inoculation studies demonstrate that the maintenance of polymorphism and trajectories of pathogen evolution are strongly affected by abiotic variation. Recent data further suggests that pathogen life-history trade-offs may contribute to the maintenance of diversity of pathogen populations. These trade-offs are strongly affected by host genotype and are not evident under optimal resource conditions. The importance of environmental heterogeneity for host-pathogen interactions that was recognised over 50 years ago by the ‘disease triangle’ is proving to be the key to understanding how genetic diversity is maintained in pathogen populations and how pathogens adapt to their hosts.

## Identifier les scénarios complexes de colonisation à l'échelle continentale des champignons pathogènes à l'aide des méthodes ABC

B. Barrès (1), S. Robert (2), C. Abadie (2), J. Carlier (2), C. Dutech (1), V. Ravigné (2)

(1) INRA, UMR1202 BIOGECO, Domaine de Pierroton, Cestas F-33610, France

(2) CIRAD, UMR BGPI, Campus International de Baillarguet, TA A 54/K, 34398 Montpellier cedex France

Comprendre les événements qui ont menés à l'émergence de champignons pathogènes pourrait permettre d'adapter les réglementations sanitaires qui visent à empêcher les nouvelles introductions de maladies. Les développements récents de méthodes de modélisation basées sur les statistiques Bayésiennes telles que les analyses de type « Approximate Bayesian Computation » (ou ABC), permettent aujourd'hui de tester des scénarios évolutifs complexes. Après avoir brièvement rappelé le principe général des analyses ABC, nous illustrerons l'intérêt de ces méthodes pour retracer l'histoire évolutive de la colonisation de trois champignons pathogènes à l'échelle continentale : *Mycosphaerella fijiensis*, responsable de la maladie des raies noires du bananier, *Microcyclus ulei*, responsable de la maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa et *Cryphonectria parasitica*, qui provoque le chancre du châtaignier. A travers ces trois exemples analysés grâce au logiciel DIYABC, nous montrerons l'intérêt de ces méthodes, les précautions à prendre lors de leurs utilisations, ainsi que certaines de leurs limites. L'exemple de l'étude de *M. ulei* montrera l'importance de l'utilisation dans les simulations de populations non-échantillonnées et l'impact que cela peut avoir sur la compréhension des phénomènes de dispersion à l'échelle continentale. Dans le cas de *C. parasitica*, nous verrons que même si l'analyse ABC ne permet pas de reconstituer de manière sûre l'histoire de la colonisation de ce champignon aux Etats-Unis à partir de l'Asie, elle permet tout de même d'exclure certains scénarios qui étaient auparavant envisagés. Enfin l'exemple de *M. fijiensis* permettra d'illustrer les introductions avec des histoires complexes qui font intervenir des événements d'admixture ainsi que des scénarios alternatifs selon les continents colonisés. Le développement d'outils d'analyses conviviaux et intégrant des outils de contrôles de la sensibilité, de la spécificité et de la cohérence des modèles, tel que le logiciel DIYABC, permettent d'envisager de larges applications en biologie évolutive et plus particulièrement en génétique des populations.

*Mots clés* : histoire évolutive, émergence, ABC

## ***Laccaria amethystina*, modèle d'étude multi-échelles de la structure génétique spatiale des populations de Basidiomycètes ectomycorhiziens tempérés**

**L. Vincenot** (1,2), J. Labbé (3), S. Hortal (3), M. Roy (1), F. Martin (3), M-A. Selosse (1)

(1) Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive (CEFE-CNRS), 1919 route de Mende 34293 Montpellier, France

(2) Sustainable Agro-ecosystems and Bioresources Department, Fondazione Edmund Mach, via E. Mach 1, 38010 San Michele all'Adige, Italie

(3) UMR1136 Interactions Arbres-Microorganismes, INRA-Nancy, 54280 Champenoux, France

Douze ans d'étude de la structure génétique spatiale des populations du Basidiomycète *Laccaria amethystina* en ont fait un modèle pour la compréhension des dynamiques de reproduction et de dispersion des champignons ectomycorhiziens en forêts tempérées. Des suivis spatio-temporels ont été menés en peuplements forestiers <sup>(1-5)</sup> afin d'observer la dynamique locale des populations de *L. amethystina* dans des forêts de stades variés. De forts taux de renouvellement annuel des génets révèlent une stratégie écologique rudérale (R); mais la persistance pluriannuelle de certains individus suggère une stratégie de persistance compétitive (C), et démontre la nécessité de suivi pluriannuel des populations locales. Au-delà des dynamiques locales de reproduction, nous avons souhaité vérifier le caractère généraliste de *L. amethystina* envers ses hôtes variés, de nombreuses espèces de Pinacées et Fagacées de forêts tempérées. Nous avons mis en évidence l'absence de structuration des populations par l'hôte dans trois forêts françaises, confirmant l'adaptabilité de *L. amethystina* à des hôtes multiples <sup>(6)</sup>. Cette étude a également révélé une absence de différenciation liée à la distance (jusqu'à 450 km), soulevant la possibilité de dispersion à longue distance de l'espèce. Nous avons élargi l'étude des échanges génétiques entre populations à l'échelle européenne, et démontré, de nouveau, une absence de structure génétique spatiale et d'isolement par la distance sur 2900 km. Ces résultats mettent en évidence une population panmictique européenne <sup>(7)</sup>. Enfin, une approche complémentaire de phylogéographie a révélé une probable spéciation cryptique de *L. amethystina* sur 10000 km, entre l'Europe et le Japon <sup>(7)</sup>. Nous souhaitons à présent approfondir l'étude de ce processus de spéciation en complétant l'étude des populations du complexe d'espèces *L. amethystina* sur l'ensemble de son aire de répartition, et ses relations phylogénétiques aux autres *Laccaria* spp.

(1) Gherbi H, Delaruelle C, Selosse MA, Martin F, 1999. *Molecular Ecology*, DOI: 10.1046/j.1365-294x.1999.00801.x.

(2) Fiore-Donno AM, Martin F, 2001. *New Phytologist*, DOI: 10.1046/j.0028-646X.2001.00271.x.

(3) Wadud MA, 2007. Thèse de doctorat, Université de Tokyo.

(4) Vincenot L, 2009. Thèse de doctorat, Université Montpellier II.

(5) Hortal S, Trocha LK, Murat C, Buée M, Chybicki IJ, Trojankiewicz M, Burczyk J, Martin F. Soumis à *Molecular Ecology*.

(6) Roy M, Dubois MP, Proffit M, Vincenot L, Desmarais E, Selosse MA, 2008. *Molecular Ecology*, DOI: 10.1111/j.1365-294X.2008.03790.x.

(7) Vincenot L, Nara K, Sthultz C, Labbé J, Dubois MP, Tedersoo L, Martin F, Selosse MA. *Molecular Ecology* (accepté pour publication 10/2011).

**Mots-clés** : ectomycorhize, structure génétique spatiale, régime de reproduction, isolement par la distance, spéciation

## Structure des populations de *Botrytis cinerea* à l'échelle mondiale avec des marqueurs SNP neutres et sélectionnés

L. Gout (1), A. Ducasse (2), A.-S. Walker (2), A. Gautier (2), J. Amselem (2), C. Neema (1)

(1) AgroParisTech, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France.

(2) INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France.

L'étude de l'évolution de la diversité génétique des populations de *Botrytis cinerea* a été entreprise avec des marqueurs SNP. Ces marqueurs, lorsqu'ils sont développés à l'échelle du génome entier, sont des outils puissants pour l'étude des recombinaisons, des réarrangements génomiques, et des liens de parenté génétique entre individus et entre populations. L'alignement des génomes de deux souches de *B. cinerea* a permis d'identifier plus de 56.000 SNP dont 22.315 sont localisés dans des gènes avec 39% de SNP non synonymes. Un ensemble de 144 SNPs localisés dans les séquences exoniques de gènes potentiellement neutres et de gènes de résistance à des fongicides, a été sélectionné. Une collection mondiale d'environ 450 souches de *B. cinerea* a été constituée. Ces souches proviennent de 10 zones géographiques différentes et ont été préférentiellement isolées de vigne. L'étude a également concerné 4 populations ayant subi différentes pressions de sélection fongicides. Le génotypage des souches de *B. cinerea* a été réalisé avec les 144 marqueurs SNP et 9 marqueurs microsatellites. 124 marqueurs SNPs se sont révélés être polymorphes dans au moins une population. L'analyse des patrons de polymorphisme montre que la proportion de loci SNP polymorphes, le nombre moyen d'allèles par locus et la proportion d'haplotypes uniques sont variables entre les différentes populations géographiques. La même structure des populations est observée avec ces marqueurs SNP et les marqueurs microsatellites mais avec une différenciation entre populations plus forte avec les marqueurs SNP. Par ailleurs, la même structuration est observée avec des SNP localisés dans des gènes de résistance aux fongicides et des SNP neutres, avec en général des *F<sub>st</sub>* plus forts mesurés avec les SNP sous sélection. Cependant, certains SNP neutres structurent fortement les populations et semblent localisés dans des gènes soumis à sélection. Nos résultats montrent que les marqueurs SNP sont des marqueurs puissants pour l'étude de la discrimination des populations. Ils permettent de repérer des gènes et des fonctions associées à la structure des populations. L'objectif maintenant est de localiser des gènes (ou des régions génomiques) soumis à pression de sélection (pouvoir pathogène) dans le génome par des approches de génétique d'association.

*Mots-clés* : SNP, structure des populations, *Botrytis cinerea*, pression de sélection

## Les barrières génétiques endogènes chez les pathogènes : la virulence-Vf chez *Venturia inaequalis* à l'épreuve des scans génomiques

T. Leroy, M. De Gracia, V. Caffier, N. Anger, C. Lemaire, B. Le Cam

Equipe Ecofun, UMR PaVé, INRA, Université d'Angers, Agrocampus, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé

Dans l'étude des causes de diversification des pathogènes fongiques, les hypothèses d'allopatrie sont bien souvent négligées au profit d'hypothèses plus adaptatives de spécialisation écologiques. Dans cette dernière hypothèse, l'adaptation à l'hôte seule pourrait aller jusqu'à expliquer l'isolement reproductif entre populations infectant différents hôtes. Ainsi on s'attend à ce que le nombre de zones génomiques montrant une forte différenciation entre ces populations sur hôtes différents (*i.e.* îlots de spéciation) soit extrêmement réduit et centré sur le ou les quelques locus d'adaptation à l'hôte. A l'inverse, considérer l'hypothèse du contact secondaire entre populations ayant divergé en allopatrie, permet de formuler des attendus différents. En effet la remise en contact doit non seulement permettre de révéler des barrières génétiques exogènes (*i.e.* impliquées dans l'adaptation à l'hôte) mais aussi endogènes, résultant de l'accumulation d'incompatibilités de type Dobzhansky-Muller pendant la période de divergence. Chez les pathogènes les barrières endogènes sont donc indépendantes de la nature de l'hôte. Cependant la théorie prévoit un couplage entre barrières exogènes et endogènes et rend donc les locus impliqués dans les barrières endogènes susceptibles d'être détectés comme outliers dans les génomes scans, bien que ne participant pas à l'adaptation à l'hôte. Chez *Venturia inaequalis*, l'agent pathogène de la tavelure, il a été montré récemment que les populations ayant contourné la résistance Vf chez le pommier, provenaient en fait d'un hôte sauvage, *Malus floribunda*. Cette population virulente Vf serait très probablement passée sur pommier domestique à l'occasion de l'introgession de la résistance Vf de *M. floribunda* vers le pommier domestique. L'hypothèse de remise en contact secondaire après divergence a donc été privilégiée dans ce cas. Dans la plupart des vergers, les populations sympatriques virulentes et avirulentes vis à vis de Vf coexistent chacune sur leur hôte, avec un isolement reproductif quasi-complet. Cependant, dans de rares cas, on peut observer de flux de gènes entre populations virulentes et avirulentes. C'est particulièrement le cas d'une population angevine que nous avons étudiée. Une approche de scan génomique a été réalisée afin de rechercher les îlots génomiques de différenciation entre populations avirulentes-Vf et virulentes-Vf. Une structure génétique neutre résiduelle entre les avirulentes-Vf et les virulentes-Vf ( $\theta=0,046^{***}$ ) a été détectée. Sur les 1208 marqueurs AFLP géotypés, 21 locus « outliers » ont pu être détectés puis localisés à différentes régions du génome. Les corrélations observées entre fréquences alléliques des outliers et phénotypes ne sont pas systématiquement retrouvés sur un échantillonnage plus large de populations virulentes et avirulentes vis-à-vis de Vf. Le nombre important de barrières génétiques non corrélées au phénotype suggèrent donc que de nombreuses incompatibilités génétiques de type Dobzhansky-Muller se sont accumulées pendant la divergence. Dans le cas de la virulence-Vf, l'isolement reproductif mis en place n'est donc pas qu'écologique et la contribution des barrières endogènes à cet isolement semble tout aussi importante.

Mots-clés : Spéciation, Scan génomique, Incompatibilités de Dobzhansky-Muller, *Venturia inaequalis*



## Evolution de la taille des spores au cours de la dispersion de *Melampsora larici-populina*, agent de la rouille du peuplier

M. Pernaci (1), A. Jorda (1), C. Xhaard (1,2), A. Andrieux (1), B. Fabre (1), P. Frey (1), F. Halkett (1)

(1) INRA, Nancy Université, UMR 1136 Interactions Arbres – Microorganismes (IAM), Equipe Ecologie des champignons pathogènes forestiers, F-54280 Champenoux, France

(2) INRA, UR546 Biostatistique et Processus Spatiaux, F-84914 Avignon Cedex – France

Un célèbre compromis qui gouverne l'évolution de la dispersion est l'aptitude relative à la compétition en un site saturé versus la colonisation d'un milieu vierge. Le champignon pathogène *Melampsora larici-populina*, agent de la rouille du peuplier, a servi de modèle pour tester ce paradigme sur l'évolution des traits d'histoire de vie, et en particulier de la taille des spores de champignons lors de la dispersion. Un corridor écologique, la vallée de la Durance, permet de suivre chaque année une épidémie de rouille qui se propage d'amont en aval. L'étude est réalisée sur 90 isolats prélevés aléatoirement en 2008 et 2009 au sein de trois populations par année : une population « initiale » échantillonnée en amont au début de l'épidémie, une population « résidente » échantillonnée sur le même site en fin d'épidémie et une population « migrante » échantillonnée en aval en fin d'épidémie. Nous avons procédé dans un premier temps à la caractérisation de la différenciation génétique entre populations, sur la base de 25 marqueurs microsatellites, avant de caractériser la différenciation phénotypique observée sur la base de traits des spores en lien avec le potentiel de dispersion : leur « volume » et leur « ratio longueur/largeur ». Ceci nous a permis de tester la nature des forces évolutives agissant au cours d'une épidémie. Les analyses génétiques mettent en évidence une dérive des populations « migrantes », avec une forte différenciation génétique neutre et une évolution indépendante des fréquences d'allèles sur les deux années de récolte. Sur le plan phénotypique on observe une répétabilité de la différenciation entre populations sur le trait « volume », répétabilité moins évidente concernant le trait « ratio L/l ». Les comparaisons entre différenciations génétiques et phénotypiques attestent qu'il y a sélection sur le volume des spores au cours de la dispersion. La sélection naturelle aurait donc bien un impact lors de la dispersion de *M. larici-populina* au cours de l'épidémie. Nous discuterons l'apport de cette étude sur la compréhension des processus de sélection qui s'opèrent au cours de la dispersion d'un champignon pathogène.

Mots-clés : *Melampsora larici-populina*, dispersion, biologie évolutive, sélection, comparaison  $Q_{ST}$ - $F_{ST}$

## **Evolution of specialisation in spatial metapopulations**

**J. Papaïx** (1,2), O. David (2), C. Lannou (1), H. Monod (2)

(1) INRA, UMR 1290 BIOGER, F-78850 Thiverval Grignon, France

(2) INRA, UR 341 Mathématiques et Informatique Appliquées, F-78350 Jouy-en-Josas, France

Plant diseases have been a threat for crop production since the origin of agriculture. From field to landscape, agro-ecosystems offer more conducive environments for the emergence and spread of pathogens, compared to natural ecosystems. In agricultural systems, anthropogenic disturbances have accelerated adaptive phenotypic changes leading to the emergence of new pathogen species or to the differentiation and subsequent specialisation of pathogen sub-populations. Specialisation of pathogens to cultivated varieties causes the most popular varieties to become increasingly susceptible to different diseases. How do pathogens adapt to a heterogeneous environment? And how does landscape structure determine host specificity of pathogens? In this work, we propose to address these questions from a theoretical point of view based on adaptive dynamics. The role of spatial heterogeneity of the environment on adaptation and specialisation of populations has been the subject of numerous theoretical studies in evolutionary biology. However, existing theoretical approaches lack in the consideration of spatial perspectives: they must be extended to a framework with more flexible assumptions on the environment structure in order to match with the agricultural problematic. Here, we developed a spatially explicit metapopulation model in order to investigate how selection, dispersal range, habitat proportion and habitat spatial structure interplay to influence the evolution of specialisation at the local and landscape scales. In the proposed model, the landscape is decomposed into a network of patches and individuals are described by one phenotypic trait that controls their fitness in each habitat. Both analytical and simulation studies are used in order to determine the evolutionarily stable phenotypes, the evolutionary speed and the evolution of the phenotypic variance.

*Mots-clés* : dynamics of adaptation, spatial heterogeneity, specialisation, metapopulation

## L'évolution peut-elle conduire un parasite hétérothallique à l'extinction ?

M. Castel (1), L. Mailleret (2,3), V. Ravigné (4), F. M. Hamelin (1)

(1) Agrocampus Ouest, UMR1099 BiO3P, 35042 Rennes, France

(2) INRA, UR880 URIH, 06903 Sophia Antipolis, France

(3) INRIA, BIOCORE, 06902 Sophia Antipolis, France

(4) CIRAD, UMR BGPI, 34398 Montpellier, France

Nombre de parasites de plantes (champignons ou oomycètes) produisent des structures de survie via reproduction sexuée. Chez les parasites *hétérothalliques* (ou autostériles), la reproduction sexuée nécessite l'appariement de types sexuels compatibles. Pour une faible densité de population, la probabilité de rencontrer un type sexuel compatible est aussi plus faible, ce qui peut mener à l'extinction. Ce phénomène est appelé *effet Allee* en écologie (Courchamp et al, 2008). (Il ne concerne a priori pas les parasites homothalliques, qui par définition sont autofertiles.) Aussi, il existe un phénomène dit d'*extinction par évolution* (Webb, 2003 ; Parvinen, 2005). L'évolution peut dans certains cas conduire à l'extinction d'une espèce, notamment du fait d'un effet Allee (Rankin et al, 2005). Cela est dû au fait qu'est sélectionné non pas le groupe mais l'individu. Il s'agit d'une manifestation de la « tragédie des bien communs » en biologie (Rankin et al, 2007). Des travaux théoriques récents (Mailleret et al, sous presse ; Hamelin et al, sous presse) suggèrent que l'évolution peut induire une dynamique écologique de type chaotique, où on observe des années de surexploitation de l'hôte par le parasite. Ainsi, le parasite se retrouve parfois en faible densité à la fin de la saison. Dans ce modèle cependant, la production de formes de survie ne suppose pas l'appariement de types sexuels compatibles (« modèle homothallique »). Nous considérons actuellement une version hétérothallique du modèle, où le parasite est supposé haploïde, comme la plupart des ascomycètes. L'effet Allee est mathématiquement apparent. De plus, le « modèle hétérothallique » conserve une grande part des propriétés du modèle homothallique. Ainsi, on espère montrer que le scénario évoqué plus haut peut se produire, et cette fois conduire à l'extinction de la population. Cela pourrait donner des arguments écologiques au fait que l'homothallisme dérive de l'hétérothallisme (Yun et al, 1999).

Courchamp F, Berec L, Gascoigne J (2008) Allee effects in ecology and conservation. Oxford University Press, Oxford.

Hamelin, F.M., Castel, M., Poggi, S., Andrivon, D., and Mailleret, L. Seasonality and the evolutionary divergence of plant parasites. Ecology, In Press.

Mailleret, L., Castel M., Montarry, J., Hamelin F.M. From elaborate to compact seasonal plant epidemic models and back: is competitive exclusion in the details? Theoretical Ecology, In Press.

Parvinen K. (2005). Evolutionary suicide. Acta Biotheoretica 53: 241-264.

Rankin D.J., Lopez-Sepulcre A. (2005). Can adaptation lead to extinction? Oikos 111: 616-619.

Rankin DJ, Bargum K, Kokko H. (2007). The tragedy of the commons in evolutionary biology. Trends Ecol. Evol. 22:643-651.

Webb C. (2003). A complete classification of Darwinian extinction in ecological interactions. The American Naturalist 161:181-206.

Yun, S.-H., Berbee, M.L., Yoder, O.C., Turgeon, B.G. (1999). Evolution of the fungal self-fertile reproductive life style from self-sterile ancestors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 96:5592–5597.

*Mots-clés* : homothallique, effet Allee, dynamique adaptative, extinction darwinienne, suicide évolutif

**Oral - Session 5 :**

**Epidémiologie**

## Setting the stage for new paradigms for plant disease epidemiology

C. Morris

UR407 Pathologie Végétale, INRA-PACA, Avignon, France

Research on the epidemiology of plant diseases strives to elucidate the factors that favor the proliferation of pathogenic microorganisms and the conditions that turn their otherwise benign conversation with plants into a nasty and wounding argument. Oddly, the whole of plant epidemiological research is set in the context of ecosystems where agricultural practices *per se* are realized. The decisive work of E.C. Stakman and colleagues (1923, 1946) in the early 1900's on the aerobiology of plant pathogens and their potential for long distance spread both horizontally and vertically created an opportunity for plant pathologists to expand the conceptual borders of epidemiology to habitats beyond agriculture that pathogens would encounter by the vagaries of aerial transport. This opportunity has been clearly missed in the field of Plant Pathology whereas it has become a fundamental concept in Medical Microbiology. However, there are very recent efforts to create more holistic views of the life history of plant pathogens that account for the ensemble of substrates and habitats in which they can survive and multiply (Demba Diallo et al 2012; Monteil et al 2012; Morris et al 2009, 2010). Expanded life history frameworks of plant pathogens will have at least 3 consequences on epidemiological research and the subsequent conception of disease control strategies. Firstly, expanded life history frameworks will foster the identification of new potential inoculum sources and will open novel questions about the mixing of populations from agricultural and non-agricultural habitats. Secondly, investigation of how pathogens adapt to substrates other than plants will raise questions about the link between pathogenic and saprophytic fitness and the possibility that factors other than direct interaction with cropped plants or with phytosanitary compounds are drivers of pathogen diversification. Thirdly, understanding the role of pathogens in environmental processes other than causing plant disease will lead to questions about the potential consequences of plant disease control on the environment as a whole. Research on the plant pathogenic bacterium *Pseudomonas syringae* as well as the human pathogen *Cryptococcus gatii* illustrating these concepts will be presented briefly.

Demba Diallo M., Monteil C.L., Vinatzer B.A., Clarke C., Glaux C., Guilbaud C., Desbiez C., Morris C.E. 2012. *Pseudomonas syringae* naturally lacking the canonical type III secretion system are ubiquitous in non agricultural habitats, are phylogenetically diverse and can be pathogenic. *ISME Journal* (in press).

Monteil C.L., Guilbaud C., Glaux C., Lafolie F., Soubeyrand S., Morris C.E. 2012. Emigration of the plant pathogen *Pseudomonas syringae* from leaf litter contributes to its population dynamics in alpine snowpack *Environmental Microbiology* (in press).

Morris C.E., Sands D.C., Vanneste J.L., Montarry J., Oakley B., Guilbaud C., Guilbaud 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(3): e00107-10-e00107-20. doi:10.1128/mBio.00107-10.

Morris C.E., Bardin M., Kinkel L.L., Moury B., Nicot P.C., Sands D.C. 2009. Expanding the paradigms of plant pathogen life history and evolution of parasitic fitness beyond agricultural boundaries. *PLoS Pathogens* 5(12) : e1000693. doi:10.1371/journal.ppat.1000693.

Stakman E, Christensen CM (1946). Aerobiology in relation to plant disease. *Botanical Review* 12: 205-253.

Stakman EC, Henry AW, Curran GC, Christopher WN (1923). Spores in the upper air. *J. Agric. Res.* 24: 599-606.

**Keywords:** life history, evolutionary ecology, aerobiology, epidemiology, *Pseudomonas syringae*, water cycle

## Evolution de l'abondance et de la structure génétique de l'inoculum aérien de *Botrytis cinerea* sur un site maraîcher pendant trois ans

C. Leyronas, M. Duffaud, P. Nicot

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

*Botrytis cinerea* peut se révéler hautement dommageable pour les plantes cultivées sous abris. Comprendre les paramètres climatiques qui influencent la présence et la structure génétique de l'inoculum pourrait permettre de prévoir l'apparition et limiter le développement d'épidémies de pourriture grise. Ainsi, l'objectif de cette étude est de caractériser les variations de l'inoculum aérien en termes de quantité et de structure génétique et de déterminer si ces variations sont liées à des paramètres climatiques locaux ou distants. L'inoculum aérien de *B. cinerea* a été collecté 2 fois par mois de septembre 2007 à décembre 2010 à l'aide d'un échantillonneur d'air situé à proximité de tunnels maraîchers sur le site de l'INRA d'Avignon. Pour chaque date de collecte l'inoculum aérien a été quantifié (CFU m<sup>-3</sup>) sur une période de 24 heures. De plus, les données climatiques (température de l'air, vitesse du vent, humidité relative) ont été enregistrées. Les isolats ont été génotypés à l'aide de 9 marqueurs microsatellites (Fournier *et al.*, 2002). Sur une période de 3 ans, 84 échantillonnages ont été réalisés. Les plus fortes concentrations d'inoculum ont été enregistrées en automne (2008) et les plus basses généralement durant l'été. Seulement 3 dates en juin et juillet n'ont pas donné d'inoculum viable. La quantité d'inoculum était corrélée de façon significative, positivement avec la vitesse du vent et négativement avec la température de l'air du jour de collecte. Les masses d'air amenant le plus de spores provenaient du sud ou du nord alors que celles en amenant le moins provenaient plus fréquemment de l'ouest. Au total, 570 isolats répartis sur 29 dates ont été génotypés, dont 67 appartenaient à l'espèce cryptique *pseudocinerea*. Les loci microsatellites étaient polymorphes, avec un nombre d'allèles de 3 (Bc4) à 32 (Bc6), et ont permis de distinguer 371 haplotypes différents. Les haplotypes en multicopies étaient représentés par 2 à 8 souches. Certains de ces haplotypes ont été retrouvés à plusieurs mois d'intervalles sur le site. La population aérienne de *B. cinerea* montre une diversité génétique élevée (indice de Simpson : 0.99). Les valeurs de Fst étaient faibles (<0.1) mais significatives entre certaines dates, et non significatives lorsque les haplotypes en multicopies étaient ôtés du jeu de données.

Fournier *et al.* 2002. *Mol. Ecol. Notes* 2 :253-255

*Mots clés* : *Botrytis cinerea*, inoculum aérien, aérobiologie, évolution temporelle

## **Le réchauffement climatique est-il une des causes de l'émergence du dépérissement des aulnes dû à *Phytophthora alni* en France ?**

**C. Husson**, L. Becker, J. Aguayo, B. Marçais

INRA Nancy, UMR IAM, 54280 Champenoux

L'émergence de nouvelles maladies est devenue une menace importante dans la conservation des écosystèmes forestiers. Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer la cause de ces émergences : l'évolution des pratiques agricoles et sylvicoles, le changement climatique, la modification des populations parasitaires ou encore l'introduction par l'homme d'organismes dans des zones où ils étaient auparavant inexistantes. En France, l'aulne glutineux (*Alnus glutinosa*) fait partie des essences ripicoles et forestières fortement menacées par l'émergence d'un nouvel agent pathogène. Jusqu'alors considérée comme sans problèmes sanitaires majeurs, cette espèce bien implantée le long des cours d'eau en Europe subit, depuis le début des années 1990, de sévères dépérissements et des taux de mortalité annuels de l'ordre de 5%. Ceux-ci sont associés à un Oomycète hybride d'apparition récente nommé *Phytophthora alni*. Cette étude s'intéresse aux différents facteurs environnementaux favorables au développement de la maladie. La quantité d'inoculum présent dans le sol, l'incidence de dépérissement du houppier et l'incidence de chancre sont analysées, à l'aide d'un modèle multivarié, en fonction de divers paramètres de l'environnement. Il ressort que la température moyenne, relevée 15 jours avant la date de prélèvement, et le pH du sol sont significativement liés à la quantité d'inoculum de *P. alni* dans le sol. D'autre part, la température moyenne hivernale de l'année n-1 a un effet significatif à la fois sur l'incidence de dépérissement du houppier et sur l'incidence de chancre l'année n, les hivers doux étant propices à une forte incidence de maladie. Ces résultats suggèrent que le réchauffement climatique ait pu participer à l'émergence de la maladie.

*Mots-clés* : maladies émergentes, facteurs environnementaux, température, réchauffement climatique

## Développement d'un modèle de simulation d'une épidémie foliaire tropicale à l'échelle de la plante: cas des cercosporioses du bananier

C. Landry (1), F. Bonnot (2), V. Ravigné (2), J. Vaillant (4), J. Carlier (2), C. Lannou (3), C. Abadie(1)

(1) CIRAD, UMR BGPI, Capesterre Belle Eau, Guadeloupe

(2) CIRAD, UMR BGPI, Montpellier

(3) INRA, UR BIOGER, Grignon

(4) Université Antilles Guyane (UAG), Pointe à Pitre, Guadeloupe

Les cercosporioses du bananier dues à *Mycosphaerella fijiensis* (agent de la maladie des raies noires (MRN) ou cercosporiose noire) et *M. musicola* (agent de la maladie de Sigatoka (MS) ou cercosporiose jaune) sont considérées comme les maladies foliaires les plus graves pour les productions bananières. Ces pathogènes sont présents dans la majorité des zones de cultures bananières intertropicales. Le contrôle de ces maladies indispensable pour l'exportation des fruits, consiste actuellement en des applications fréquentes de fongicides par voie aérienne, méthode néfaste pour l'environnement. Un modèle de simulation des cercosporioses a été conçu pour approfondir les connaissances du pathosystème et tester de nouvelles méthodes de lutte, en particulier l'utilisation de variétés résistantes. Un modèle mécaniste de simulation des cercosporioses en temps discret est en cours de développement. Il décrit, sans spatialisation et en conditions climatiques optimales, le développement de la maladie sur un bananier représentatif d'une parcelle pendant un cycle de culture. Ce modèle permettra d'évaluer l'efficacité de différentes composantes de résistance partielle dans le contrôle des cercosporioses et d'étudier la compétition entre les 2 espèces fongiques en cas d'invasion de la MRN (contexte parasitaire actuel en Martinique). Il se décompose en deux sous-modèles, le premier simulant la croissance du bananier, le second simulant la propagation de l'épidémie. Le sous modèle « croissance de la plante » est appréhendé de manière déterministe alors que le sous modèle « propagation de la maladie » est lui stochastique. Ce dernier décrit le fonctionnement du pathogène sur son hôte: contamination, reproduction asexuée (production de conidies), rencontre de lésions, reproduction sexuée (production d'ascospores), dispersion des spores. Les données disponibles pour calibrer le modèle ont été recueillies au Cameroun (MRN) et aux Antilles (MRN et MS) en conditions naturelles d'infestation et en conditions contrôlées (croissance des lésions, nombre de spores émises par lésion). L'estimation des paramètres de ce second sous-modèle a été réalisée dans un cadre Bayésien par le biais de techniques MCMC (Markov Chain of Monte Carlo). On obtient alors une distribution à posteriori de l'ensemble des paramètres du modèle ainsi qu'une distribution à posteriori de la variance résiduelle. L'inférence des paramètres et les résultats des premières simulations seront présentés et discutés.

*Mots-clés* : Cercosporioses, Bananier, Epidémie foliaire, Modèle bayésien, Estimation paramètres, MCMC



## **Diffusion de l'agent exotique de pourriture racinaire des pins *Heterobasidion irregulare* en Italie: facteurs concernés et interactions avec l'espèce native *H. annosum***

**P. Gonthier**(1), L. Giordano(1), S. Michelotti(1), M. Garbelotto(2)

(1) Université de Turin, Département DIVAPRA, via L. da Vinci 44, I-10095 Grugliasco, Italie

(2) Université de Californie – Berkeley, Département ESPM, 137 Mulford Hall, Berkeley 94720, CA, USA

Le champignon agent de pourriture racinaire des pins nord-américains *Heterobasidion irregulare* fut introduit en Italie, près de Rome, le long de la deuxième guerre mondiale (Gonthier *et al.*, 2004) et il provoque une intense mortalité dans les forêts de pin parasol (*Pinus pinea*). L'espèce native *H. annosum* est également présente dans les pinèdes italiennes. L'analyse de spores collectées à l'aide de rondelles piège et examinées avec des amorces spécifiques a permis de conclure que *H. irregulare* est actuellement présente dans toutes les forêts de pin situées le long de la côte Tyrrhénienne entre Fregene et le Parc national du Circeo (100 Km environs) et que dans les forêts colonisées, elle est l'espèce de *Heterobasidion* la plus répandue, surtout dans les plantations pures (Gonthier *et al.*, 2007). Un projet de recherche national PRIN ayant le but d'identifier les facteurs à la base de l'invasivité de *H. irregulare* et d'en étudier l'épidémiologie a été financé par le Ministère Italien de l'Instruction, de l'Université et de la Recherche. Les résultats d'une série d'épreuves d'inoculation de *H. irregulare* et *H. annosum* sur pins indiquent que l'espèce exotique n'est pas plus virulente de l'espèce native sur les pins européens (Garbelotto *et al.*, 2010). Toutefois, les premiers résultats d'une épreuve de capacité saprophytique des deux espèces sur bois de pin dévoilent que *H. irregulare* serait capable de coloniser dans le même temps un volume de bois 4 fois plus haut que *H. annosum*. L'espèce exotique, au contraire de celle native, serait également capable de sporuler d'une façon assez abondante non seulement dans les périodes pluvieuses (hiver), mais aussi à la fin de longues périodes de sécheresse (été), comme le démontrent les données de déposition de spores des deux espèces (Garbelotto *et al.*, 2010). La diffusion de *H. irregulare* en Italie semblerait donc être favorisée par des facteurs de nature écologique plutôt que par la capacité infectieuse du champignon. Selon ce scénario, les forêts et les plantations de pin parasol, qui n'ont jamais été menacées d'une façon sérieuse par l'espèce native *H. annosum*, assez rare dans ces peuplements, seraient aujourd'hui endommagées par *H. irregulare* à cause de sa capacité de s'y installer et de les coloniser. Les deux espèces de *Heterobasidion* sont en train de s'hybrider et une importante introgression d'allèles de l'espèce native *H. annosum* a été observée dans l'espèce invasive *H. irregulare* (Gonthier et Garbelotto, 2011).

Garbelotto M., Linzer R., Nicolotti G., Gonthier P., 2010. *Biological Invasions* 12, 943-957.

Gonthier P., Garbelotto M., 2011. *Molecular Ecology* 20, 2756-2770.

Gonthier P., Warner R., Nicolotti G., Mazzaglia A., Garbelotto M.M., 2004. *Mycological Research* 108, 468-470.

Gonthier P., Nicolotti G., Linzer R., Guglielmo F., Garbelotto M., 2007. *Molecular Ecology*, 16, 1389-1400.

*Mots-clés:* pathogène exotique, invasion, conifères, pourriture racinaire, écologie, sporulation, capacité infectieuse, capacité saprophytique, introgression d'allèles.

## **Implication de l'architecture du couvert comme facteur modulant le développement épidémique de l'ascochytose (*Mycosphaerella pinodes*) du pois (*Pisum sativum*), via la sénescence des organes**

**B. Richard**, S. Jumel, F. Rouault, B. Tivoli

INRA Centre de Rennes UMR 1099 BiO3P, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu cedex

Le niveau de sévérité de maladie des organes de variétés sensibles peut être influencé par leur vieillissement. Deux réactions contrastées peuvent ainsi être observées, soit une augmentation de la résistance (appelée résistance ontogénique), soit une augmentation de la réceptivité au pathogène. Dans le cas de l'ascochytose (*Mycosphaerella pinodes*) sur pois de printemps (*Pisum sativum*), les premiers symptômes de maladie apparaissent à la base du couvert sur les stipules ayant commencé à jaunir (début de sénescence visuelle) et un gradient de maladie se met en place au cours de l'épidémie avec une sévérité décroissante vers le haut du couvert.

Des essais au champ (dispositif en split-plot) ont été menés sur le site du Rheu (35) en 2009 et 2010 afin d'étudier si des différences architecturales pouvaient engendrer des niveaux de maladie différents avec une différence de sénescence des organes comme pouvant être un des facteurs explicatifs. Trois cultivars de pois de printemps sensibles et aux propriétés architecturales différentes ont été semés à deux et trois densités respectivement (80, 40 [et 30] graines/m<sup>2</sup>). Pour découpler l'effet de la sénescence des organes et des plantes des autres mécanismes explicatifs, des essais de réceptivité ont été réalisés en conditions contrôlées en 2009 et 2010 sur un cultivar sensible à différents stades de développement. Les résultats ont montré (i) une réceptivité plus importante des organes ayant commencé à jaunir, (ii) un gradient de maladie plus important pour les stades les plus avancés, (iii) une accélération de la sénescence des organes du bas du couvert sous l'effet des densités les plus élevées et un niveau accru de sévérité de maladie et (iv) une accélération induite de la sénescence par la maladie pour les organes entrant en sénescence.

*Mots-clés* : densité de semis, gradient de maladie, réceptivité, sénescence induite, sénescence visuelle

## Effet de la croissance et dynamique de développement d'une plante sur la dynamique d'une épidémie et sur la réceptivité des tissus : cas d'étude vigne-oïdium

A. Calonnec, J. Jolivet, S. Schnee

INRA, UMR1065 SAVE, 33883, Villenave d'Ornon, France.

Actuellement, la lutte contre les maladies fongiques est peu satisfaisante en terme de protection durable plus particulièrement sur vigne où les traitements contre le mildiou et l'oïdium représentent jusqu'à 60% des produits phytosanitaires utilisés sur cette culture. Une possibilité encore peu exploitée serait d'intervenir non pas directement sur le bioagresseur, comme le font les biocides mais via les caractéristiques des plantes et des couverts hôtes permettant de limiter la dispersion et la multiplication des parasites, voire d'échapper à l'infection. Dans notre étude nous avons essayé de répondre à ces questions : 1) des changements de dynamique et de structure de la plante peuvent-ils être considérés comme des processus clefs dans la variation des dynamiques épidémiques ? 2) Quel est l'effet d'une modification de croissance de l'hôte sur la réceptivité des tissus vis-à-vis d'un biotrophe obligatoire ? 3) Peut-on exploiter ces processus en modifiant la gestion de la culture de la plante ? Sur vigne les caractéristiques du couvert sont liées : i) aux cépages avec des particularités physiologiques (précocité, sensibilité) et phénotypiques spécifiques (ramification, répartition des surfaces foliaires, longueur des entre nœuds,...), mais surtout ii) au mode de conduite ou à la vigueur intrinsèque ou conférée par un porte-greffe en interaction avec d'autres effets environnementaux (sol, climat...). On peut agir sur la plante soit à la plantation (densité, palissage, enherbement), soit annuellement (taille, charge, opérations culturales, itinéraires techniques). La vigueur est souvent citée comme un facteur favorisant l'extension des épidémies d'oïdium sur feuilles (Calonnec et al., 2009, Valdes et al., 2011), cependant une meilleure compréhension, quantification et hiérarchisation des mécanismes impliqués était nécessaire pour pouvoir exploiter toutes les ressources de la plante pour un contrôle plus intégré des épidémies. Un dispositif au vignoble présentant plusieurs niveaux de vigueur, croisés avec deux cépages d'importance internationale (Merlot et Cabernet-Sauvignon) a été utilisé pour quantifier l'impact des variations de vigueur sur 1) les dynamiques épidémiques de l'oïdium, et sur 2) la sensibilité des tissus. Les résultats obtenus et une méthode (PLS-PM) pour analyser ces relations complexes à différentes échelles de temps et d'espace seront présentés.

Calonnec A, Cartolaro P, and Chadoeuf J. 2009. Highlighting features of spatiotemporal spread of powdery mildew epidemics in the vineyard using statistical modeling on field experimental data. *Phytopathology*, 99, 411-422.

Valdes-Gomez H, Gary C, Cartolaro P, Lolas-Caneo M, Calonnec A. 2011. Powdery mildew development is positively influenced by grapevine vegetative growth induced by different soil management strategies. *Crop Protection*, 30, 1168-1177.

Schnee S, Jolivet J, Calonnec A. 2011. Consideration of dynamical plant-pathogen interactions for an improved management of powdery mildew epidemics in grapevine. *IOBC/wprs Bulletin*, 67, 131-138.

*Mots-clés* : dynamiques de développement, vigne, oïdium, PLS-PM

## Modélisation du déroulement d'une épidémie de rouille du peuplier dans la vallée de la Durance

C. Xhaard (1), F. Halkett (2), F. Fabre (3), P. Frey (2), J. Coville (1), S. Soubeyrand (1)

(1) INRA, UR546 Biostatistique et Processus Spatiaux, 84914 Avignon, France.

(2) INRA, Nancy-Université, UMR1136 Interactions Arbres - Microorganismes, 54280 Champenoux, France.

(3) INRA, UR407 Pathologie Végétale, 84140 Montfavet, France.

La vallée de la Durance constitue une zone propice à l'étude de la dispersion du champignon phytopathogène *Melampsora larici-populina*, l'agent de la rouille du peuplier. Dans la partie amont de cette vallée, une zone de sympatrie entre peuplier et mélèze (l'hôte alternant de *M. larici-populina*) confine la reproduction sexuée du champignon. En aval de cette zone, la Durance qui s'écoule vers le sud, est bordée de manière quasiment continue d'une ripisylve formée de peupliers noirs, facilitant la multiplication clonale du champignon. Ce système en corridor canalise les épidémies de rouille du peuplier d'amont en aval de la rivière. Dans la première partie de cette étude, nous avons réalisé un suivi spatio-temporel de l'incidence de la maladie sur 13 sites situés le long de la vallée. Deux échantillonnages complémentaires ont été réalisés au cours de sept campagnes de notations effectuées entre juillet et novembre 2008. Ces notations ont permis de confirmer le déroulement graduel de l'épidémie depuis l'amont vers l'aval. Les sites sont infectés les uns après les autres en fonction de leur position le long de la vallée et ils arrivent à saturation dans l'ordre de leur emplacement le long de la rivière. Dans la seconde partie, un travail de modélisation du processus épidémiologique et d'estimation des paramètres du modèle a été réalisé. Pour ce faire une approche mécanistico-statistique a été adoptée: nous avons couplé un modèle de la dynamique épidémique basé sur une équation intégro-différentielle à un modèle du processus d'observation basé sur des lois de probabilité de comptages. L'ajustement de ce modèle aux données nous a permis d'estimer les paramètres de croissance démographique et de dispersion.

*Mots-clés* : rouille du peuplier, *Melampsora larici-populina*, épidémie en corridor, estimation de paramètres, approche mécanistico-statistique

## Une épidémie, combien ça coûte ?

I. Sache (1), A.S. Roy (2), F. Suffert (1), M. L. Desprez-Loustau (3)

(1) INRA, UR1290 Bioger-CPP, Campus AgroParisTech, 78850 Thiverval-Grignon, France

(2) OEPP, 21 boulevard Richard-Lenoir, 75011 Paris, France

(3) INRA, UMR1202 BioGeCo, 69 route d'Arcachon, 33612 Cestas, France

L'impact des maladies des plantes est généralement quantifié par des pourcentages de pertes de récolte attribuables à chaque organisme nuisible. Des évaluations chiffrées du coût des maladies de plantes sont requises pour convaincre les financeurs et décideurs de l'utilité des programmes de recherche de protection des cultures, notamment en épidémiologie, et de l'utilité de mesures réglementaires pour lutter contre certaines maladies. L'approche traditionnelle, de type comptable, consiste à cumuler les coûts directs des pertes de récoltes et des traitements, tandis que la plupart des coûts indirects (dits "externes") sont difficilement internalisés ; une évaluation des coûts réels à une échelle nationale ou continentale passe par un certain nombre d'extrapolations, voire d'approximations, effectuées à partir d'un jeu restreint de résultats d'expérimentations spécifiques. Les exemples du mildiou et de l'oïdium de la vigne et du mildiou de la pomme de terre permettent d'illustrer la démarche et ses limites. Les parasites de quarantaine contre lesquels des mesures d'éradication ont été prises autorisent une approche plus complète des coûts, incluant le coût du diagnostic, de la surveillance, des mesures de diagnostic, d'éradication et de remplacement, et les coûts commerciaux dus à la perte de marchés d'exportation. Dans le cas des écosystèmes non cultivés et à but non nécessairement commercial, par exemple, les forêts et les zones naturelles récréatives, les évaluations arithmétiques sous-estiment le coût réel des épidémies en ignorant de nombreux coûts indirects. Liés aux impacts des maladies sur la biodiversité et les services écosystémiques, ces coûts sont difficiles à quantifier. À titre d'exemple, la destruction irrémédiable d'une espèce faisant partie du patrimoine naturel et culturel d'une région ne se prête pas aisément au chiffrage. Avec les réserves nécessaires, nous avons pu évaluer l'impact économique des champignons pathogènes sur la forêt française. L'accroissement prévisible des intrusions d'organismes nuisibles et l'émergence de nouvelles maladies incitent à améliorer les méthodes d'analyse du risque phytosanitaire en prenant mieux en compte les coûts économiques ; réalisée dans certains cas spécifiques, l'évaluation de ces coûts réels peut dépendre fortement des situations locales de production et de marché. Dans un cadre européen, elle nécessitera le développement de modèles économiques fonctionnant à l'échelle continentale.

*Mots-clés* : économie, services écosystémiques, impacts, biodiversité

## Construire et évaluer des scénarios de gestion spatiale des systèmes de culture pour accroître la durabilité des résistances au phoma chez le colza : méthode et exemples de deux terrains contrastés

L. Hossard (1,2), M-H. Jeuffroy (1), V. Souchère (2)

(1) INRA UMR Agronomie/AgroParisTech, 78850 Thiverval Grignon, France

(2) INRA UMR SADAPT, 78850 Thiverval Grignon, France

Pour gérer et contrôler durablement les épidémies, trois leviers techniques peuvent généralement être utilisés : génétique, agronomique et chimique. Pour le phoma du colza (agent pathogène *Leptosphaeria maculans*), l'utilisation intensive de la méthode génétique peut compromettre le contrôle durable de la maladie : en effet les résistances qualitatives peuvent être rapidement contournées (Rouxel *et al.*, 2003), en fonction des caractéristiques de la population pathogène et du fond génétique des variétés (i.e. présence et type de résistance quantitative). La gestion de la population pathogène (taille et structure) est donc cruciale pour contrôler le phoma. Cette gestion peut être réalisée en combinant les méthodes génétiques et agronomiques dans le temps et dans l'espace. Un modèle spatialement explicite, SIPPOM-WOSR (Lô-Pelzer *et al.*, 2010), a été construit pour simuler les effets de ces différents leviers combinés, i.e. la localisation spatio-temporelle des systèmes de culture, sur la durabilité des résistances et le contrôle de la maladie. L'activation et l'organisation de ces différents leviers dépendent des conditions locales de culture et des stratégies des différents acteurs impliqués dans la gestion du colza. Pour imaginer des solutions réalisables et efficaces, il apparaît donc nécessaire de construire ces solutions avec les acteurs locaux. Une méthode de construction participative des scénarios a ainsi été mise au point. Cette méthode combine interviews des principaux acteurs (pour caractériser la situation initiale et affiner l'identification des acteurs à impliquer), construction d'une vision commune du fonctionnement de la maladie et de l'organisation des acteurs, construction des scénarios, simulations informatiques de leurs performances, puis discussion avec les acteurs. Cette méthode a été appliquée sur deux terrains différant par leurs caractéristiques du paysage, contextes climatique, cultural (systèmes de culture et itinéraires techniques du colza) et historique par rapport au phoma du colza: les régions Centre et Picardie. Les résultats apparaissent contrastés inter et intra régions, liés aux spécificités physiques des différentes zones et à l'organisation des acteurs. Ces scénarios permettent d'identifier les marges de manœuvre sur les principaux leviers permettant la gestion du phoma du colza, et donnent donc des pistes locales pour l'organisation des systèmes de culture pour contrôler la maladie.

Lo-Pelzer, E., L. Bousset, M. H. Jeuffroy, M. U. Salam, X. Pinochet, M. Boillot, and J. N. Aubertot, 2010, SIPPOM-WOSR: a simulator for Integrated Pathogen POPulation Management of phoma stem canker on Winter OilSeed Rape: I. Description of the model: Field Crops Research, v. 118, p. 73-81.

Rouxel, T., A. Penaud, X. Pinochet, H. Brun, L. Gout, R. Delourme, J. Schmit, and M. H. Balesdent, 2003, A 10-year survey of populations of *Leptosphaeria maculans* in France indicates a rapid adaptation towards the Rlm1 resistance gene of oilseed rape: European Journal of Plant Pathology, v. 109, p. 871-881.

*Mots-clés* : Phoma du colza ; approche participative ; stratégies de gestion ; modèle de simulation

## Gérer les variétés résistantes aux maladies à l'échelle des territoires agricoles

C. Lannou (1), J. Papaïx (1,2), H. Goyeau (1), H. Monod (2)

(1) INRA Bioger, 78850 Thiverval Grignon

(2) INRA MIAJ, 78350 Jouy en Josas

L'idée d'organiser le déploiement des variétés cultivées à l'échelle des territoires est déjà ancienne mais n'a produit que de rares travaux conceptuels et encore moins d'applications concrètes. Parmi les raisons possibles, on peut retenir l'accès relativement facile aux traitements phytosanitaires, la difficulté d'expérimenter à une si large échelle et le problème de l'acceptabilité par les acteurs concernés. Les limites du système intensif et le problème de la durabilité des résistances, ressources génétiques qui doivent être préservées, ravivent l'intérêt pour ce type d'approche. En combinant une analyse de données acquises à l'échelle de la France sur la rouille du blé avec une démarche de simulation d'épidémies sur des paysages modélisés, nous avons montré que : (i) le système gène-pour-gène (gènes R et Avr) est nécessaire mais loin d'être suffisant pour expliquer le fonctionnement des populations parasites à grande échelle. Les caractères quantitatifs (niveau d'agressivité du parasite, de résistance quantitative de la plante) jouent un rôle essentiel dans la structuration de ces populations. (ii) La manière dont les variétés sont réparties dans le paysage, en particulier leur fréquence et leur niveau d'agrégation, influe sur la propagation des épidémies et l'efficacité *in situ* des résistances utilisées mais aussi sur la composition génétique de la population pathogène. La structure du paysage variétal peut en particulier favoriser l'émergence de spécialistes agressifs ou maintenir une population de généralistes. Ce travail ouvre des possibilités en matière de gestion raisonnée des résistances, qualitatives et quantitatives, à l'échelle des territoires agricoles. Une perspective est d'y associer une étude des contraintes organisationnelles des acteurs de terrain pour déboucher sur des préconisations applicables.

Papaïx J, Goyeau H, Du Cheyron P, Monod H, Lannou C. 2011. Influence of cultivated landscape composition on variety resistance: an assessment based on wheat leaf rust epidemics. *New Phytologist* 191:1095-1107.

Goyeau H, Lannou C. 2010. Specific resistance to leaf rust expressed at the seedling stage in cultivars grown in France from 1983 to 2007. *Euphytica* 178:45-62.

*Mots-clés* : gestion des résistances; paysage; modélisation

## **Fitness differences between pathogens drive the outcome of disease control based on host diversification**

B.I. Camara (1), V. Caffier (2), F. Didelot (2), B. Le Cam (2), **N. Sapoukhina** (2)

(1) Laboratoire LIEBE UMR CNRS 7146, Université Paul Verlaine-Metz, Avenue du Général Delestraint, 57070 Metz, France

(2) INRA/ACO/UA UMR077 PaVé, IFR149, BP 60057, F-49071 Beaucozéz, France

The spatial and genetic heterogeneity imposed by host diversification alters both pathogen specialization and the fitness landscape of the pathogen population. We studied the effects of pathogen specialization and differences in pathogen fitness on the outcomes of a host diversification strategy. We constructed a reaction-diffusion model describing the dynamics of a diversified host-pathogen system in a two-dimensional spatial domain. Our work is of a generic nature and applies to a wide range of diseases with diffusive pattern of dispersal, but we used apple scab disease, caused by *Venturia inaequalis*, as an example. We parameterized the model, using field data for the spread of this typical airborne fungal disease over a heterogeneous orchard including susceptible and resistant varieties. Numerical simulations demonstrated that the choice of the components of diversification strategies should be consistent with the genetic composition and fitness differences between genotypes of the pathogen. Moreover, consideration of among-pathogen genotypic interactions makes it possible to highlight the key-principles of the sustainable use of quantitative resistance. Our theoretical findings might also contribute to clarifying the usefulness of 'low selective pressure' strategies, such as low pressure drugs or chemicals and imperfect vaccines, in the management of drug- and chemical-resistance.

*Keywords:* reaction-diffusion model, plant resistance management, quantitative resistance, competition, heterogeneity, Bayesian method



# **Journées Jean Chevaugeon 2012**

## **RESUMES DES POSTERS**

**Posters - Session 1 :**

**Interactions Moléculaires**

***Hyaloperonospora arabidopsidis* manipule une glycosyltransférase d'*Arabidopsis* pour l'établissement de la maladie**

V. Allasia, M. Ponchet, et H. Keller

UMR-Interactions Biotiques et Santé Végétale, INRA1301-CNRS6243-Université Nice-Sophia Antipolis, Sophia Antipolis, France.

Les UDP-glycosyltransférases (UGTs) sont des enzymes présentes dans l'ensemble des organismes vivants. Elles catalysent le transfert d'un monosaccharide depuis un donneur activé vers un accepteur, formant ainsi une liaison glycosidique. Chez les plantes, des hormones végétales, des métabolites secondaires impliqués dans les réponses aux stress biotiques et abiotiques, et des xénobiotiques tels que les herbicides sont des substrats pour les UGTs. La glycosylation peut activer ou inactiver ces composés, mais également augmenter leurs propriétés hydrophiles et ainsi réguler la compartimentalisation subcellulaire. Au cours des interactions entre plantes et agents pathogènes biotrophes, des UGTs assurent par exemple l'homéostasie cellulaire entre la forme active et cytoplasmique de l'acide salicylique (SA) et la forme inactive et vacuolaire de cette hormone de défense. Nos études sur l'interaction entre *Arabidopsis thaliana* et l'oomycète biotrophe obligatoire *Hyaloperonospora arabidopsidis* (*Hpa*) ont permis d'identifier une UGT qui est fortement activée de façon transcriptionnelle pendant l'infection. La mutation du gène conduit à une réduction de la sensibilité des plantes au mildiou, tandis que sa surexpression stimule le développement de la maladie. Chez les plantes mutantes, l'infection par *Hpa* conduit à une importante accumulation de SA et à une stimulation rapide de la transcription d'un gène marqueur de la voie de défense SA-dépendante. L'ensemble de nos analyses, incluant une comparaison du transcriptome global entre plantes sauvages et mutantes, indique que l'UGT régule de façon négatif l'état de défense des cellules végétales. *Hpa* activerait ainsi l'UGT pour mieux infecter la plante.

*Mots-clés* : acide salicylique, défense, sensibilité, priming, oomycète.

## The homeobox arabesque gene in *Botrytis cinerea*; growth and shapes under control

Z. Antal (1), C. Rascle (1), A. Cimerman (2), M. Viaud (2), C. Bruel (1)

(1) Université Lyon 1, UMR 5240: Microbiologie, Adaptation et Pathogénie; 10 Rue Dubois, 69622 Villeurbanne, France

(2) INRA, UR1290 BIOGER-CPP, venue Lucien Brétignières, BP-01, 78850 Thiverval-Grignon, France

Filamentous growth and the capacity at producing conidia are two critical aspects of most fungal life cycles, including that of many plant or animal pathogens. Here, we report on the identification of a homeobox transcription factors encoding gene that plays a role in these two particular aspects of the development of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. Deletion of the *BcHOX1/Arabesque* gene in both the *B. cinerea* T4 and BO5-10 genetic backgrounds leads to similar phenotypes, among which a curved, arabesque-like, hyphal growth on hydrophobic surfaces. Expression of the *Arabesque* gene is higher in conidia than in developing appressorium or mycelium. In the *Arabesque* mutants, colony growth rate is reduced and abnormal infection cushions are produced. Asexual reproduction is also affected with abnormal conidiophore being formed, reduced conidia production and dramatic changes in conidial shape. Finally, the mutation specifically affects the ability of the fungus mycelium to invade different host plants.

*Keywords:* Fungal Development, Virulence, Conidiogenesis

**Variabilité du déterminisme génétique de la réponse au pH chez un champignon pathogène du blé, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici***

S. Daval, L. Lebreton, C. Gracianne, K. Gazengel, A-Y. Guillerm-Erckelboudt, M. Boutin, A. Sarniguet

INRA, Agrocampus Ouest, Université Rennes 1, UMR 1099 BiO3P « Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes », F-35653 Le Rheu, France

Le pH est un facteur déterminant dans le développement des maladies telluriques des plantes car il affecte les phases saprophytiques et parasitaires du cycle de vie des champignons phytopathogènes. Pour survivre aux variations de pH qu'ils peuvent rencontrer dans le sol ou sur les tissus infectés, ces organismes ont développé un moyen de percevoir le pH extérieur (voie de signalisation Pal de réponse au pH) et des mécanismes d'adaptation. Chez *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (*Ggt*), champignon responsable du piétin-échaudage du blé, une variabilité entre souches de la croissance sur milieu nutritif en fonction du pH a été démontrée (*poster Lebreton et al., JJC 2012*). Afin de comprendre l'origine de cette diversité phénotypique intraspécifique de réponse au pH du milieu, le déterminisme génétique potentiel de réponse au pH a été étudié. Les gènes de la voie de réponse au pH chez *Ggt* ont été identifiés, par homologie avec les gènes de cette voie chez d'autres champignons, et leur structure caractérisée. Chez des souches de *Ggt* présentant des profils de croissance différents en fonction du pH, les gènes de la voie de signalisation Pal montrent des différences d'expression en fonction de la souche et en fonction du pH. Cette étude doit permettre de mieux appréhender l'impact du pH sur les traits d'histoire de vie de *Ggt*.

*Mots-clés* : voie de signalisation pH, PacC, Pal, expression gènes, RT-PCR quantitative, champignon, piétin-échaudage, blé.

**Effet du BTH sur les défenses de la vigne en présence de différents pathogènes obligatoires (*Plasmopara viticola* et *Erysiphe necator*)**

**M-C. Dufour** (1), C. Lambert (2), J-M. Merillon (2), M-F. Corio-Costet (1)

(1) INRA-Bordeaux, UMR INRA-ENITA 1065 Santé et Agroécologie du vignoble, BP, 81, 71 avenue Edouard Bourleaux, 33883 Villenave d'Ornon, France.

(2) Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, Groupe d'Etude des Substances Végétales à Activités Biologiques, 210, chemin de Leysotte, CS 50008, 33882 Villenave d'Ornon, France.

La vigne est sensible à de nombreuses maladies et en particulier à l'oïdium et au mildiou (*Erysiphe necator* et *Plasmopara viticola*). Les stimulateurs de défense des plantes semblent être une piste forte intéressante en tant que méthodes alternatives ou complémentaires pour limiter l'utilisation de pesticides conventionnels de la vigne. Pour développer de nouvelles stratégies de gestion intégrée des ravageurs et comprendre l'impact des méthodes alternatives, comme les stimulateurs de défense des plantes sur l'évolution des populations de bioagresseurs, il est important d'étudier le rôle de la variabilité génétique et le potentiel évolutif des populations de pathogènes sous différentes pressions de sélection, afin de diminuer le risque d'apparition de populations résistantes. Parce qu'ils agissent sur la plante, les éliciteurs induisent à une résistance de la plante hôte multifactorielle. Le but de cette étude était de i) préciser le rôle du benzothiadiazole (BTH) ou acilbenzolar-S-méthyl, un analogue fonctionnel de l'acide salicylique, et sa capacité à induire une résistance de la vigne face à la diversité du mildiou et de l'oïdium rencontrés dans les vignobles ii) de trouver des marqueurs moléculaires ou biochimiques de l'état de défense de la vigne dans des conditions contrôlées. Après un traitement avec BTH, l'inhibition de la croissance pathogène a été mesurée et l'expression d'un ensemble de gènes potentiellement impliqués dans les défenses a été suivie par PCR quantitative en temps réel (RT-qPCR). Enfin, nous avons effectué, en parallèle, une analyse quantitative du contenu en polyphénols et stilbènes, afin d'établir une corrélation entre le niveau d'expression des gènes impliqués dans leur biosynthèse et l'accumulation de ces produits. Les différents résultats d'efficacité, d'expression des gènes et de quantification des polyphénols ont montré que les réponses diffèrent après une élicitation, en fonction de la variabilité intra et inter spécifiques des pathogènes.

**Towards the inventory of pathogenicity effectors on *Plasmopara halstedii*, the obligate oomycete responsible for Downy Mildew in sunflower *Helianthus annuus*****Q. Gascuel**, F. As-Sadi, M-C. Boniface, C. Rosenberg, P. Vincourt, L. Godiard

Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR441, INRA-CNRS, F-31326 Castanet-Tolosan, France.

Downy mildew in sunflowers (*Helianthus annuus* L.) is caused by the obligate biotrophic oomycete *Plasmopara halstedii*. Understanding the emergence of new races (defined by new virulence profiles on sunflower genotypes), is a prerequisite for defining plant sustainable resistance. Novel EST sequence data of *P. halstedii* have been recently provided to the community [1]. Among them, some putative RXLR and CRN pathogenicity effectors, typical of other oomycetes, have been found expressed during the interaction of sunflower with downy mildew. Some of them were selected because their sequences present i) the LxLFLAK conserved translocation signal, ii) a good level of similarity with effectors of *P. infestans* and iii) various C-terminal domains [2]. In order to express *in planta* these putative *P. halstedii* CRN effectors, they were cloned under the control of the 35S strong promoter and fused to a 3-HA tag within the binary expression vector pBi discount 35S, using Golden Gate cloning (Engler *et al.*, PloS one 2009). LBA4404 *A. tumefaciens* strain transformed with these plasmids were used in agro-infiltration experiments of sunflower leaves, using a protocol we develop from the one of Manavella and Chan (Nature Protocols 2009). Among 5 PhCRN effectors tested, 3 induced necroses in the leaves of a resistant sunflower line, XRQ, and 2 of them don't induce similar necrotic symptoms on a susceptible line, CF33, suggesting that their recognition depends on the sunflower genotype tested. According to Zig-Zag model (Hein *et al.*, Molec. Plant Path. 2009), our results suggest that these effectors can be recognized *in planta*, triggering plant responses that could determine the outcome of the interaction. These data constitute a first step in deciphering the interactions between *P. halstedii* effectors and *H. annuus* responses, that we will pursue using the 14 races of the pathogen having differential virulence profiles on 9 *H. annuus* selected lines. The genome sequencing of race 710 and of 6 other races of *P. halstedii* should help us in describing the variability of *P. halstedii* effector repertoire, CRN and RXLR effectors, in order to find putative avirulence genes.

[1] As-Sadi F., Carrere S., Gascuel Q., Hourlier T., Rengel D., Le Paslier M-C, Bordat A., Boniface M-C., Brunel D., Gouzy J., Godiard L., Vincourt P. (2011). Transcriptomic analysis of the interaction between *Helianthus annuus* and its obligate parasite *Plasmopara halstedii* reveals single nucleotide polymorphisms in CRN sequences. *BMC Genomics* 12: 498.s

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

**Keywords:** oomycete, effector, plasmopara, downy mildew, RXLR, CRN, sunflower

**Méthode innovante de real-time PCR développée à partir du système KASPar® : application au suivi simultané de deux génotypes d'un champignon phytopathogène sur racines de blé par quantification de SNP**

**K. Gazengel, L. Lebreton, A-Y. Guillerm-Erckelboudt, M. Marchi, A. Sarniguet, S. Daval**

INRA, Agrocampus Ouest, Université Rennes 1, UMR 1099 BiO3P « Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes », F-35653 Le Rheu, France

Une méthode innovante de PCR quantitative a été développée à partir du système de génotypage de SNP KASPar®. L'innovation réside dans une prise de données à la fin de chaque cycle de PCR au lieu d'une simple lecture en fin de PCR. Ceci a permis de quantifier sur racines de blé les deux génotypes G1 et G2 du champignon tellurique phytopathogène *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (*Ggt*). Dans une même réaction, des amorces choisies dans la séquence ITS ciblent un SNP spécifique de chacun des deux génotypes. Les deux génotypes sont détectés et quantifiés sur ADN provenant de racines inoculées séparément par chacun des deux génotypes puis mélangées, ou de racines directement co-inoculées simultanément par les deux génotypes. Sur racines, les limites de détection et de quantification sont respectivement de 1,8 pg et 7 pg. Les avantages de cette méthode sont sa sensibilité, sa spécificité, sa reproductibilité et son faible coût puisqu'une seule réaction permet la quantification de deux génotypes. Cette technique innovante peut être adaptée au suivi de la dynamique de génotypes en compétition dans les populations de *Ggt* au champ ainsi qu'à d'autres organismes phytopathogènes ou symbiotiques.

*Mots-clés* : PCR quantitative, ITS, FAM, CAL Fluor Orange 560, champignon, piétin-échaudage, génotypage, blé, *Gaeumannomyces graminis*.



## Caractérisation d'inhibiteurs de protéases lors de l'interaction entre la vigne et *Botrytis cinerea*

C. Gérard, J. Crouzet, C. Clément, F. Mazeyrat-Gourbeyre, L. Monti-Dedieu, F. Baillieul

Laboratoire de Stress, Défenses et Reproduction des Plantes, URVVC-SE EA 2069, Université de Reims Champagne-Ardenne, UFR Sciences Exactes et Naturelles, Moulin de la Housse, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France

Les protéines PR (Pathogenesis Related) sont des éléments importants de la machinerie de défense des plantes contre les agents pathogènes. Parmi celles-ci, la famille des PR-6 comprend des inhibiteurs de protéases (IP), principalement étudiés pour leur implication dans la résistance face aux insectes ravageurs. Différentes études suggèrent que le champignon nécrotrophe *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise, dégrade les protéines de défense de la vigne en produisant des protéases [1,2]. Il a également été montré que la pepstatine, inhibiteur chimique de protéases aspartiques, réduit l'infection de la carotte par *B. cinerea* [3]. Nous émettons l'hypothèse que l'induction d'IP par la vigne pourrait aider la plante à contrer l'infection par *B. cinerea*. L'objectif de ce travail est d'identifier des IP capables d'inhiber les protéases fongiques et de vérifier l'impact de cette inhibition sur la capacité du champignon à dégrader les protéines de défense de la plante. Deux IP, faisant respectivement partie de la famille des Potato inhibitor I (VvPIN) et Kunitz Soybean Trypsin Inhibitor (VvKunitz 16) ont été sélectionnés. Leur profil d'expression a été étudié par q-RT-PCR suite à divers stress. Les résultats préliminaires montrent que ces deux inhibiteurs sont induits dans les baies par la blessure, le méthyl jasmonate, le Bion (un analogue de l'acide salicylique) et lors de l'infection par *B. cinerea*. Dans les feuilles et les baies infectées, les IP sont induits plus tardivement que les protéases du champignon et bien après les premières lésions causées par l'agent pathogène, suggérant donc que les IP sont exprimés trop tardivement. Une induction précoce de l'expression de ces deux IP pourrait limiter le développement de *B. cinerea*. Parallèlement, la production d'IP recombinants, en cours de réalisation, nous permettra d'identifier les protéases fongiques cibles et de tester *in vitro* leur activité inhibitrice ainsi que leur impact sur la dégradation de protéines de défense. Des études d'hybridation *in situ* sont en cours pour déterminer la localisation tissulaire des ARNm des deux IP lors de l'infection par le champignon. Enfin, la production de plantes transgéniques surexprimant les IP nous permettra de vérifier leur potentiel effet protecteur *in planta* contre *B. cinerea*.

[1] Manteau S. (2003). Thèse de doctorat : Etude des facteurs de virulence de *Botrytis cinerea* et des protéines de défense de la baie. Université de Reims Champagne-Ardenne.

[2] Marchal R., Warchol M., Cilindre C., and Jeandet P. (2006). Evidence for protein degradation by *Botrytis cinerea* and relationships with alteration of synthetic wine foaming properties. *J. Agric. Food Chem.* 54 : 5157-5165.

[3] Movahedi S. and Heale J. B. (1990) Purification and characterization of an aspartic proteinase secreted by *Botrytis cinerea* Pers ex. Pers in culture and in infected carrots. *Physiological and Molecular Plant Pathology.* 36(4), 289-302.

*Mots-clés* : Inhibiteurs de protéases, Vigne, *Botrytis cinerea*,

## Le transporteur de magnésium PaAlr1 est nécessaire au développement des spores chez le champignon filamenteux *Podospora anserina*

P. Grognet (1,2), H. Lalucque (1,2), P. Silar (1,2)

(1) Univ Paris Sud 11, Institut de Génétique et Microbiologie, UMR CNRS Bât. 400, 91405 Orsay cedex, France

(2) Univ Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, UFR des Sciences du Vivant, 75205 Paris CEDEX 13 France

Le magnésium est l'ion divalent le plus abondant dans la cellule et l'un des ions les plus importants pour le fonctionnement de la cellule dans la mesure où il agit en tant que cofacteur pour de nombreuses enzymes (environ 300). Il est également requis pour la stabilisation de la membrane et des ARNs. Chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*, l'import du magnésium dans la cellule est sous le contrôle de deux transporteurs de type ALR. Les protéines ALR1 et ALR2 présentent un domaine conservé similaire au domaine CorA identifié initialement chez *Salmonella typhimurium*. Les protéines appartenant à cette famille sont présentes chez les bactéries, les plantes, les champignons ainsi que dans les mitochondries des animaux et sont toutes des transporteurs de magnésium. Dans cette étude, nous avons identifié et délété un gène de type Alr1 chez le champignon filamenteux *Podospora anserina*. La souche délétée n'est pas seulement plus résistante au magnésium que la souche sauvage mais présente également un défaut de développement des ascospores, suggérant un rôle crucial de cette protéine durant la formation des spores. L'observation du contenu des périthèces au microscope permet de distinguer des asques mais contenant des spores non matures bloquées à une étape précoce de leur développement. Ce défaut de développement des spores est également visible lors d'un croisement avec une souche sauvage, où uniquement 2 spores sur 4 sont visibles dans l'asque, suggérant un défaut ascospore-autonome lié à cette mutation. La complémentation avec un plasmide contenant une copie sauvage du gène a permis la restauration d'un phénotype sauvage indiquant que le phénotype observé est bien dû à l'absence de ALR1 dans le mutant.

Da Costa, Bernardo M T, Katrina Cornish, et Jay D Keasling. 2007. « Manipulation of intracellular magnesium levels in *Saccharomyces cerevisiae* with deletion of magnesium transporters ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 77(2): 411-425.

Espagne, Eric, Olivier Lespinet, Fabienne Malagnac, Corinne Da Silva, Olivier Jaillon, Betina M Porcel, Arnaud Couloux, et al. 2008. « The genome sequence of the model ascomycete fungus *Podospora anserina* ». *Genome Biology* 9(5): R77.

MacDiarmid, Colin W., et Richard C. Gardner. 1998. « Overexpression of the *Saccharomyces cerevisiae* Magnesium Transport System Confers Resistance to Aluminum Ion ». *Journal of Biological Chemistry* 273(3): 1727-1732.

Richard C, Gardner. 2003. « Genes for magnesium transport ». *Current Opinion in Plant Biology* 6(3): 263-267.

**Mots-clés :** magnésium, reproduction, spore, *Podospora anserina*, champignon filamenteux.

## Expression spatio-temporelle des réactions de défense et induction de la résistance de la vigne par une bactérie non pathogène, *Pseudomonas fluorescens* PTA-CT2

C. Gruau, P. Trotel-Aziz, S. Villaume, F. Rabenoelina, C. Clément, F. Baillieul, A. Aziz

URVVC EA 2069, Université de Reims Champagne-Ardennes, Campus Moulin de la Housse, B.P. 1039 51687 Reims cedex 2, France

De nombreuses bactéries non pathogènes sont capables de protéger les plantes contre des agents phytopathogènes en favorisant la mise en place d'une résistance systémique induite (ISR) *via* l'induction et/ou la potentialisation (priming) de ses mécanismes de défense. Cependant, la nature des mécanismes impliqués dans le déclenchement de cette ISR reste controversée. Chez la vigne, l'importance de l'ISR s'avère déterminante dans la protection contre *Botrytis cinerea* [1]. Parmi les bactéries étudiées, *Pseudomonas fluorescens* PTA-CT2 est la plus efficace en terme de protection et de potentialisation de réactions de défense [2]. Cependant, les mécanismes impliqués dans la mise en place de l'ISR induite par PTA-CT2 restent à élucider. Le rôle des polyamines vis-à-vis de la résistance aux stress biotiques fait l'objet de travaux récents. Les déviations de ce métabolisme (synthèse et dégradation des polyamines) lors de l'interaction plante/agent pathogène seraient impliquées notamment dans la transduction de signaux liés aux réactions de défense [3]. L'un des objectifs de cette étude est d'établir une relation entre la résistance induite par PTA-CT2 et l'expression spatio-temporelle de réactions de défense de la vigne (phytoalexines, protéines de défense, polyamines). Une approche biochimique couplée à une approche moléculaire a été développée afin d'étudier les effets de la bactérie sur le métabolisme des stilbènes et des polyamines ainsi que sur l'expression systémique de gènes de défense au cours des premiers jours après l'inoculation. PTA-CT2 induit (i) l'expression différentielle d'un gène *STS* (stilbène synthase), suivie d'une accumulation de resvératrol et de viniférines dans les différents organes, (ii) l'expression du gène *PR6* (inhibiteur de protéases), rapidement dans les racines et tardivement dans les feuilles et (iii) une accumulation de polyamines libres dans l'appareil aérien. Ces résultats soulignent l'importance des racines et des tiges dans la perception et la transduction de signaux bactériens vers les parties aériennes au cours de l'interaction vigne-bactérie. Des résultats préliminaires montrent aussi que le gène *NPR1.1* n'est exprimé dans aucun organe de vigne même après 5 jours d'inoculation. Les voies de signalisation impliquées dans la régulation de l'ISR par PTA-CT2 devront être étudiées. L'implication potentielle des polyamines au cours de ces réactions sera discutée.

[1] Magnin-Robert M, Trotel-Aziz P, Quantinet D, Biagianti S, Aziz A (2007) Biological control of *Botrytis cinerea* by selected grapevine-associated bacteria and stimulation of chitinase and  $\beta$ -1,3 glucanase activities under field conditions. *Eur J Plant Pathol* 118: 43-57.

[2] Verhagen B, Trotel-Aziz P, Jeandet P, Baillieul F, Aziz A (2011) Improved resistance against *Botrytis cinerea* by grapevine-associated bacteria that induce a prime oxydative burst and phytoalexin production. *Phytopathology* 101: 768-777

[3] Hussain SS, Ali M, Ahmad M, Siddique KHM (2011) Polyamines: Natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Biotechnol Adv* 29: 300-311.

Mots-clés : *Botrytis cinerea*, défenses induites, phytoalexines, *Pseudomonas fluorescens*, *Vitis vinifera*

## La résistance quantitative de la pomme de terre à *Phytophthora infestans* et à *Pectobacterium atrosepticum* : intégration des traits de vie du pathogène dans le modèle d'interaction en zigzag

A. Kröner, G. Hamelin, D. Andrivon, F. Val

UMR 1099 BiO3P (Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes), INRA - Agrocampus Ouest - Université de Rennes I, 65, Rue de St Briec, 35042 Rennes Cedex, France.

Si les bases mécanistiques de la résistance quantitative des plantes aux pathogènes ne sont pas complètement élucidées, le modèle d'interaction en zigzag [1] suggère fortement que le niveau de résistance de la plante dépend de l'intensité des réactions de défense élicitées par le pathogène ou des molécules issues de ce dernier (PAMPs), sans intégrer les traits de vie des pathogènes. Dans ce contexte, la résistance quantitative d'une plante à des pathogènes très différents pourrait être liée à l'activation d'un même profil de réactions générales de défense. Nous avons testé cette hypothèse en utilisant deux pathogènes différant par leur processus infectieux: un oomycète, *Phytophthora infestans* et une bactérie, *Pectobacterium atrosepticum* et cinq variétés de pomme de terre présentant des niveaux de résistance variables à *P. infestans* et *P. atrosepticum*. L'activité de la phénylalanine ammonia-lyase, utilisée comme marqueur de défense, et l'accumulation des composés phénoliques ont été mesurés dans des disques de pomme de terre élicités avec un filtrat de culture de *P. infestans* (CCF) et des lipopolysaccharides de *P. atrosepticum*. L'activité de la PAL augmentait différenciellement en fonction des variétés et seulement après induction par le CCF. Cette activité était liée positivement au niveau de résistance des variétés à *P. atrosepticum*, mais négativement au niveau de résistance à *P. infestans*. Les contenus en composés phénoliques étaient également liés positivement à l'activité de la PAL. L'inhibition de la croissance *in vitro* des deux pathogènes par l'acide chlorogénique, composé phénolique majeur dans les tubercules, suggère que l'activité de la PAL conduit à une induction des réactions de défense actives contre les deux pathogènes. Ces résultats montrent que le modèle en zigzag peut suffire à décrire la résistance quantitative de la pomme de terre à *P. atrosepticum*, mais pas à *P. infestans*. Pour ce pathosystème, il est nécessaire de le compléter par une composante supplémentaire liée au mode de vie du pathogène, sa croissance dans la plante. Nous proposons donc un modèle plus intégratif permettant de rendre compte des deux situations observées expérimentalement [2].

[1] Jones, J. D. G. & Dangl, J. L. (2006). "The plant immune system." *Nature* 444: 323-329.

[2] Kröner, A., Hamelin, G., Andrivon, D., Val, F. (2011). "Quantitative Resistance of Potato to *Pectobacterium atrosepticum* and *Phytophthora infestans*: Integrating PAMP-Triggered Response and Pathogen Growth." *PLoS ONE* 6(8): e23331.

*Mots-clés* : interaction plante-pathogène, PAMPs, *phenylalanine ammonia-lyase*, acide chlorogénique

**Effets inhibiteurs de la phytoalexine 6-méthoxymelléine sur le développement d'*Alternaria dauci*, agent de la brûlure foliaire de la carotte**

M. Lecomte (1,2), L. Hamama (1,2), C. Boedo (2), P. Hudhomme (3), S. Bersihand (2), G. N'guyen (2), M. Briard (1), P. Simoneau (2), V. Le Clerc (1), P. Poupard (2), R. Berruyer (2)

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

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

(3) Université d'Angers, Moltech Anjou, UMR CNRS CIMA 6200, F-49045 Angers, France.

La carotte (*Daucus carota* L.) produit une phytoalexine, la 6-méthoxymelléine (6-MM), lorsqu'elle est en présence de champignons pathogènes [1]. Le rôle de ce métabolite secondaire dans l'interaction entre *Alternaria dauci*, champignon pathogène attaquant le feuillage de la carotte, et son hôte, a été étudié. Ce travail a pour objectif de mieux cerner les liens entre, d'une part, la sensibilité du champignon à la 6-MM et le niveau d'agressivité du pathogène et, d'autre part, la production de cette phytoalexine et les variations quantitatives existant chez la carotte en terme de résistance à *A. dauci*. Les effets *in vitro* de la 6-MM sur le développement de souches d'*A. dauci* ayant des niveaux d'agressivité différents [2] ont été analysés en utilisant des méthodes de microscopie et la technique de néphélométrie [3]. Plusieurs souches d'*Alternaria radicina* ou d'*Alternaria brassicicola* ont également été étudiées afin de comparer l'activité de la 6-MM sur d'autres espèces, pathogènes ou non de la carotte. La concentration causant la réduction de 50% (CI50) du développement fongique a été déterminée en utilisant différents critères basés sur la germination des conidies, l'élongation des tubes germinatifs, l'aire sous la courbe de croissance et le taux de croissance maximal. Selon ces différents critères, les résultats montrent clairement que le développement d'*A. dauci* est affecté par la 6-MM avec des différences significatives entre les souches mais sans corrélation évidente avec leur agressivité. L'espèce *A. brassicicola* (non pathogène sur carotte) étant plus sensible à la 6-MM comparativement à *A. dauci* ou *A. radicina*, les résultats suggèrent que la 6-MM pourrait être impliquée dans des mécanismes de résistance non-hôte. La quantification *in planta* de la 6-MM a été réalisée par HPLC dans les feuilles de deux génotypes de carotte (cv. Presto et cv. Boléro, respectivement sensible et partiellement résistant à *A. dauci*) après inoculation avec *A. dauci*. Nous avons observé une production plus rapide de 6-MM chez Boléro en comparaison avec Presto, suggérant que cette phytoalexine pourrait participer aux réactions de résistance de la carotte contre *A. dauci*. Les rôles antifongiques potentiels de la 6-MM seront discutés et des perspectives concernant les effets antifongiques d'autres métabolites de type polyacétylènes, tel que le faltarindiol, seront présentées.

[1] Mercier *et al.* (2000). Systemic and local responses associated with UV- and pathogen-induced resistance to *Botrytis cinerea* in stored carrot. *Phytopathology* 90: 981-986

[2] Boedo *et al.* (2011). Evaluating aggressiveness and host range of *Alternaria dauci* in a controlled environment. *Plant Pathology*. doi: 10.1111/j.1365-3059.2011.02494.x.

[3] Joubert *et al.* (2010). Laser nephelometry applied in an automated microplate system to study filamentous fungus growth. *Biotechniques* 48: 399-404.

Mots-clés : *Daucus carota* L., *Alternaria dauci*, 6-méthoxymelléine, phytoalexine, résistance partielle

## Investigation on plant-fungus signaling in Arbuscular Mycorrhizal symbiosis using transcriptomics

M. Malbreil, J. Laparre, V. Puech, G. Bécard, C. Roux

Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, UMR 5546 CNRS-Université Paul Sabatier Toulouse III, F-31326 Castanet Tolosan, France

Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) are obligate biotrophs and belong to an ancient fungal group able to form mutualistic association with land plants. Before interaction, both plant and AMF partners produce and perceive signals triggering cell changes that prepare symbiosis establishment. Previous studies showed that strigolactones are exuded root signals perceived by AM fungi [1] and are of great importance for the establishment of the symbiosis [2]. Other signals are expected to control this symbiosis as proposed by several authors [3,4,5,6]. The transcriptome of *Glomus intraradices* (DAOM 197198) was recently published [7]. We selected among this large collection of transcripts a set of 96 genes to develop a screening strategy based on BiomarkII technics (Fluidigm) *i)* for analyzing AMF response to strigolactones and *ii)* for screening plant signals based on a protocol developed in our team (J. Laparre, thesis work, V. Puech and G. Bécard dir.). For strigolactones, we defined an original experimental design that allowed observing and monitoring strigolactone-induced branching on the model AMF *Glomus intraradices*. This experimental design allowed performing a first analysis of gene response to these molecules. Same gene set was used to screen plant extracts perceived by the fungus. Ten HPLC-MS-Qtrap fractions of mycorrhizal and non-mycorrhizal plant extracts isolated as previously described [8] were tested for fungal gene expression. In the condition used, 35 genes among the 96 tested were differentially expressed in at least one condition. Candidate molecules defined by Qtrap analyses in the corresponding fractions are under investigation by J. Laparre. This work, starting with the delivery of a large collection of raw ESTs from *G. intraradices* to the scientific community, has laid the biological and technical basis that are the cornerstone to discover new symbiotic signals and new marker genes involved in the perception of these signals and to define the components of the obligate biotrophy.

[1] Besserer, A. *et al.* (2006) *PloS Biology* 4:1239-1247.

[2] Gomez-Roldan, V. *et al.* (2008) *Nature* 455: 189-194.

[3] Drissner, D., G. *et al.* (2007) *Science* 318: 265-268.

[4] Balzergue, C. *et al.* (2011) *J. Exp. Bot.* 62 (3): 1049-1060.

[5] Nagahashi and Douds (2011) *Fungal biology* 115: 351-358

[6] Steinkellner, S. *et al.* (2007).. *Molecules* 5: 1290-1306.

[7] Tisserant, E. *et al.* (2011) The transcriptome of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* (DAOM 197198) reveals functional tradeoffs in an obligate symbiont. *New Phytologist* epub

[8] Laparre, J. *et al.* (2011) *Plant signaling and behaviour.* 6:837-839.

*Keywords:* *Glomus intraradices*, gene expression, Biomark, Strigolactones, symbiotic signal

**Identification du gène d'avirulence *AvrPm3* chez *Blumeria graminis* f. sp. *tritici***

**F. Parlange**, D. Stirnweis, T. Jordan, L. Haldemann, S. Oberhaensli, T. Wicker, R. ben David, G. Buesing, N. Immenhauser, E. Claverie, B. Keller

University of Zurich, Institute of Plant Biology, Zolikerstrasse 107, 8008 Zurich, Switzerland

L'oidium est une maladie fongique affectant une grande variété d'espèces végétales. Elle est causée par des champignons pathogènes (Ascomycotina, Erysiphales) appartenant à un groupe d'espèces collectivement appelées biotrophes obligatoires, dont l'interaction avec la plante hôte est caractérisée par l'établissement à l'intérieur de la cellule végétale de structures spécialisées, les haustoria. Ceux-ci permettent le détournement de nutriments végétaux par le pathogène et sont considérés comme les sites d'où s'effectue la sécrétion d'effecteurs fongiques chargés de manipuler la cellule hôte et de maintenir une relation parasitique. L'oidium du blé est causé par *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (*Bgt*). L'interaction plante-pathogène est déterminée par le modèle gène-pour-gène. Le gène de résistance *Pm3* a été précédemment cloné par notre équipe [1]. Il s'agit d'un gène appartenant à la classe des CC-NBS-LRR dont la résistance à différentes races de *Bgt* est conférée de manière allélique, avec 15 allèles identifiés à ce jour [2]. Notre objectif est d'identifier le (ou les) gène(s) d'avirulence *AvrPm3* responsable(s) de la reconnaissance par *Pm3*, afin d'élucider les mécanismes moléculaires de la reconnaissance et de l'induction des réponses de défense. Ceci permettra également d'étudier l'évolution des deux partenaires de l'interaction et pourrait faciliter la caractérisation de nouveaux gènes d'avirulence ou d'effecteurs dans le génome de *Bgt*. Nous avons localisé *AvrPm3* par clonage positionnel au sein d'un intervalle de 30 kb, riche en éléments répétés (70%) et ne présentant aucune homologie avec des protéines présentes dans les bases de données. Des séquences candidates ont pu être déterminées par des programmes de prédiction de gènes et analysées pour leur expression, la présence de signal de sécrétion, et l'existence d'une corrélation entre polymorphismes et phénotypes chez des isolats naturels. Trois séquences candidates particulièrement intéressantes sont maintenant étudiées dans l'étape de validation fonctionnelle, principalement par expression transitoire dans le blé et en système hétérologue chez *Nicotiana benthamiana*.

[1] Srichumpa P, Brunner S, Keller B, Yahiaoui N (2005) Allelic series of four powdery mildew resistance genes at the *Pm3* locus in hexaploid bread wheat. *Plant Physiol* 139: 885-895

[2] Bhullar NK, Street K, Mackay M, Yahiaoui N, and Keller B (2009) Unlocking wheat genetic resources for the molecular identification of previously undescribed functional alleles at the *Pm3* resistance locus. *PNAS* 106: 9519-9524

*Mots-clés* : *Blumeria*, biotrophe obligatoire, avirulence, clonage positionnel, *Pm3*

## **Les stimulateurs des défenses des plantes : une solution face aux enjeux actuels en protection des plantes ?**

J. Guerrand, C. Monot, M. Aljabal, A. Menil, **A. Picot**, S. Hallier

VEGENOV-BBV, Penn ar Prat, F-29250 St Pol de Léon, France

La réduction de l'usage des produits phytosanitaires conventionnels implique la mise en place de stratégies alternatives capables de limiter efficacement le développement des pathogènes dans le respect de l'environnement. Parmi les solutions possibles, le recours à des produits de traitement dits «alternatifs», dont les stimulateurs des défenses des plantes, ouvrent de nouvelles perspectives. Ce poster présente des exemples de résultats d'efficacité de protection obtenus en conditions contrôlées sur plusieurs pathosystèmes. Des études sont également en cours pour préciser les mécanismes d'action mis en jeu et les caractéristiques de ce type de produits. De nombreux projets collaboratifs sont par ailleurs en cours, notamment pour mieux comprendre l'impact des conditions de cultures sur l'efficacité des stimulateurs des défenses des plantes (état physiologiques de la plante, stress biotiques et abiotiques,...). Pour faire face aux différents verrous techniques et scientifiques, un réseau national sur les stimulateurs des défenses des plantes appelé Elicitra a été créé, co-animé par ARVALIS-Institut du végétal et Vegenov.

*Mots-clés* : stimulateurs des défenses des plantes, protection des plantes, efficacité de protection, mode d'action



## Suivi de l'expression de gènes liés à la défense induit par des filtrats extracellulaires de *Neofusicoccum parvum* et *Diplodia seriata* sur des cals de *Vitis vinifera* cv Chardonnay et cv Gewurztraminer

M. Ramírez-Suero (1), J. Chong (1), S. Farine (1), F. Mazet (1), P. Larignon (2), E. Abou-Mansour (3), M. Magnin-Robert(4), F. Fontaine(4), C. Bertsch (1)

- (1) Université de Haute Alsace, UHA, Laboratoire Vigne Biotechnologie et Environnement EA 3391, UFR Pluridisciplinaire Enseignement Professionnalisant Supérieur, 33 rue du Herrlisheim, 68008 Colmar, France.  
 (2) Institut Français de la Vigne et du Vin Pôle Rhône- Méditerranée, France, Domaine de Donadille, 30230 Rodilhan, France.  
 (3) Université de Fribourg, Département de Biologie, Unité Plantes, 3 rue Albert Gockel, 1700 Fribourg, Suisse.  
 (4) Université de Reims Champagne-Ardenne, URVVC-SE EA 2069, Laboratoire de Stress, Défenses et Reproduction des Plantes, UFR Sciences Exactes et Naturelles. Moulin de la Housse, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France.

Les maladies du bois sont considérées comme très dommageables pour la pérennité du patrimoine viticole [1]. Les parasites responsables de ces maladies provoquent à plus ou moins long terme la mort du cep et peuvent nécessiter un renouvellement des plants pouvant atteindre plus de 10% d'un vignoble. Depuis environ une dizaine d'années on constate une progression inquiétante de ces maladies. Plusieurs observations laissent à penser que ce phénomène n'est probablement qu'en début de cycle: i) l'interdiction de l'arsénite de soude, seul moyen actuellement connu pour combattre l'Esca et le Black Dead Arm (BDA) à partir de 2001, ii) l'augmentation annuelle du taux de mortalité de 4 à 5 % à partir de la cinquième année dans des parcelles où le traitement par l'arsénite de soude a été arrêté, iii) le taux élevé de ceps asymptomatiques contaminés dans le vignoble. Ainsi, les maladies du bois sont à présent une préoccupation majeure de la viticulture mondiale [2]. La relation hôte-parasite, concernant les maladies du bois, est actuellement analysée sur des pieds présentant des symptômes en champs. Pour une compréhension de la relation hôte-parasite ce modèle n'est pas concluant. Effectivement, il est difficile de suivre finement l'évolution moléculaire de la maladie, de l'infection à l'expression des symptômes. De plus, de nombreux facteurs secondaires peuvent induire des réactions non imputables aux parasites étudiés. Ainsi, pour une bonne compréhension de cette relation, il est indispensable de mettre en place un modèle d'infection vigne-pathogène(s) in vitro sous conditions contrôlées. La production de métabolites phytotoxiques par ces champignons ont été identifiés et ils pourraient donner des pistes pour mieux comprendre cette maladie. Nous nous sommes particulièrement intéressés aux champignons de la famille de Botryosphaeriaceae impliqués dans le BDA. Ainsi nous proposons d'étudier l'effet de filtrats extra-cellulaires de *Neofusicoccum parvum* et *Diplodia seriata* sur des cals de *Vitis vinifera*. Grâce à notre modèle nous montrons que différentes souches de *D. seriata* et *N. parvum*; isolées de différents vignobles, montrent des profils différents d'induction ou de répression des gènes de défenses de la vigne. L'effet de toxines isolées des champignons étudiés sur les cellules de vigne nous permet d'évaluer leur impact sur le développement de la maladie. De plus, notre modèle nous permet d'évaluer la sensibilité des cépages vis-à-vis de *D. seriata* et *N. parvum*.

[1] Larignon P, Fontaine F, Farine S, Clément C, Bertsch C (2009) Esca and Black Dead Arm: two major actors of grapevine *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*. Série III. 332:765-783.

[2] Bertsch C, Larignon P, Farine S, Clément C, Fontaine F (2009) The spread of Grapevine Trunk Disease. *Science*, 324:721.

*Mots-clés* : vigne, maladies du bois, *Botryosphaeriaceae*, filtré extracellulaire, interactions, gènes de défenses.

## Recherche de QTLs d'agressivité à différents stades du cycle infectieux chez *Leptosphaeria maculans*, agent de la nécrose du collet du colza

M-H. Balesdent (1), H. Brun (2), P. George (3), T. Mongin (1), M. Ermel (2), R. Delourme (4), R. Mabon (2), P. Bally (1), M. Wagner (1), **T. Rouxel** (1)

(1) INRA UR1290 BIOGER, Avenue Lucien Bretignières, 78850 Thiverval Grignon

(2) INRA UMR1099 BiO3P, BP 35327, 35653 Le Rheu

(3) Biogemma, Domaine de Sandreau 6, chemin de Panedautes 31700 Mondonville

(4) INRA UMR118 APBV, BP 35327, 35653 Le Rheu

La dissection génétique des interactions entre *Leptosphaeria maculans* et sa plante hôte, le colza, a permis d'identifier plusieurs gènes d'avirulence chez le champignon [1]. Ces gènes interviennent dans les premiers stades de la contamination, et déterminent l'issue compatible ou incompatible de l'interaction. Lors d'une interaction compatible, *L. maculans* peut alors coloniser son hôte et poursuivre son cycle infectieux *via* une longue phase de vie systémique biotrophe conduisant *in fine* à la nécrose du collet. Des variétés possédant différents niveaux de résistance quantitative, modulant la gravité du symptôme final, ont été décrites et la dissection génétique des QTLs (Quantitative Trait Loci) expliquant cette résistance est en cours [2,3]. De même, des souches de *L. maculans* montrant des niveaux d'agressivité différents, tant au stade cotylédonnaire qu'au stade adulte, ont été décrites [4]. L'obtention de la séquence complète de *L. maculans* [5], la maîtrise de sa reproduction sexuée *in vitro* [6], et le développement de techniques quantitatives d'évaluation des symptômes après inoculation [4], permettent maintenant de rechercher chez *L. maculans* des QTLs d'agressivité aux stades cotylédonnaire et adulte. La faisabilité d'une telle approche a été évaluée à partir d'une descendance de 93 individus entre deux souches parentales d'agressivités différentes. La carte génétique construite à partir de deux marqueurs biologiques (Mat, AvrLm4-7) et 213 marqueurs issus de la séquence de *L. maculans* [5,7] comprend 36 groupes de liaisons et couvre 1920 cM (36% du génome). L'agressivité des descendants au stade cotylédonnaire a été évaluée par mesure de la surface nécrosée après inoculation de deux variétés de colza. Cette descendance a été partiellement phénotypée (76 souches) pour l'intensité des symptômes développés sur tige (noircissements et nécroses internes et externes), après inoculation du pétiole de la troisième feuille. Ces analyses ont confirmé le caractère quantitatif et reproductible des variables d'agressivité mesurées et a permis d'identifier 13 régions QTLs distinctes, expliquant, selon les variables, 10 à 60% de la variation mesurée. La poursuite de la cartographie génétique et du phénotypage des descendants permettra de définir plus précisément les régions génomiques impliquées significativement dans l'agressivité de *L. maculans* et les gènes sous-jacents aux QTLs.

Ce travail a été financé par le projet Génoplante-ANR AVirLep (ANR-07-GPLA -015)

[1] Balesdent MH et al (2002) *Phytopathology* 92:1122-1133

[2] Delourme R et al (2008) *Theor Appl Genet* 117:1055-1067

[3] Jestin et al (2011) *Mol. Breeding* 27:271-287.

[4] Brun H et al (2011) 13th International rapeseed congress, June 5-9, Prague

[5] Rouxel T, et al. (2010) *Nature commun.* 2, 189 DOI: 10.1038/ncomms1189.

[6] Kuhn ML et al (2006) *Eur. J. Plant Pathol.* 114:17-31.

[7] Bally P et al (2010) *BMC Research Notes* 201

**Mots-clés** : QTL, agressivité, résistance quantitative, *Brassica napus*, *Phoma*, *Leptosphaeria maculans*

## **Posters - Session 2 :**

### **Taxonomie, Phylogénie et Ecologie des Communautés**

## Caractérisation phylogénétique et fonctionnelle des champignons décomposeurs du bois

Y. Mathieu (1,2), L. Harvengt (1), E. Gelhaye (2), **M. Buée** (2)

(1) Institut Technologique FCBA, Laboratoire de Biotechnologie, Nangis, France

(2) UMR 1136, INRA-UHP, Interactions Arbres/Micro-Organismes, Nancy, France

Les champignons lignivores jouent un rôle majeur dans la dégradation du bois (bois d'œuvre ou écosystèmes forestiers). Le contrôle des dégâts qu'ils causent aux constructions représente un enjeu important pour la filière bois. Afin de progresser dans la connaissance de la diversité des organismes fongiques et des mécanismes physiologiques qu'ils mettent en œuvre au cours de ces dégradations, une collection d'échantillons fongiques, prélevés dans la nature (bois sur pied ou bois mort) et sur des chantiers de traitement de dégâts sur bâtiment, a été identifiée à l'aide de marqueurs neutres. Les données recueillies ont également servi à alimenter la base de données « du réseau de systématique » (RSyst) de l'INRA, base accessible aux chercheurs, professionnels du bois et de la forêt et grand public. Une partie des souches caractérisées (typage moléculaire) a été utilisée pour étudier une potentielle activité enzymatique fongique, déterminante dans la dégradation des lignocelluloses, l'activité  $\beta$ -éthérase. Ainsi, la première partie de notre travail fut d'amplifier divers barcodes ou marqueurs phylogénétiques (ITS, EF1- $\alpha$  et  $\beta$ -tubuline) pour cette collection d'échantillons fongiques. De plus, des amorces ont été "dessinées" pour amplifier et valider deux nouveaux marqueurs phylogénétiques prédits par génomique comparative à partir de 21 génomes fongiques (Aguileta et al. 2008). L'un des deux couples d'amorces permet d'amplifier plus de 80% des basidiomycètes étudiés. Le séquençage de marqueur est en cours pour environ 70 souches et la phylogénie obtenue avec ce marqueur unique sera comparée à celle reconstituée par les trois autres cibles déjà séquencées (ITS, EF1- $\alpha$  et  $\beta$ -tubuline). Les données génomiques des basidiomycètes saprophytes révèlent qu'une famille de Glutathion S-transférases intra- ou extra-cellulaires, appelée GTE, apparemment abondante, serait potentiellement impliquée dans le clivage de la liaison  $\beta$ -ether de la lignine (liaison la plus présente mais aussi la plus résistante). C'est pourquoi, en utilisant un substrat fluorescent, cette activité éthérase (sécritée ou non) a donc été recherchée chez des souches représentatives de différents genres fongiques issues de notre collection. D'autres activités enzymatiques liées à la dégradation de la lignine et de la cellulose ont également été étudiées en parallèle. Aucune activité éthérase sécrétée significative n'a pu être mesurée parmi les souches testées. Par contre, toutes les souches présentaient des activités cellulolytiques ou lignolytiques importantes au regard des autres activités enzymatiques mesurées (Mn peroxydases, laccases, cellobiohydrolases, cellulases, etc.). Une analyse intégrative des mesures de six de ces activités enzymatiques permet de structurer fonctionnellement les trois groupes écologiques auxquelles appartiennent ces souches : pourritures brunes, blanches et molles.

## Les agarics tropicaux : en route vers une nouvelle classification et de nouvelles espèces cultivables

P. Callac, J. Guinberteau

INRA, UR1264 Mycologie et Sécurité des Aliments, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France

Au sein des basidiomycètes, *Agaricus* est un genre d'espèces saprophytes dont un grand nombre présente un intérêt médicinal ou alimentaire, tel le champignon de Paris qui demeure l'espèce la plus cultivée dans le monde. Les espèces tropicales du genre sont encore peu connues et leur classification est en grande partie basée sur celle des espèces tempérées. Pour savoir dans quelle mesure cette classification est appropriée aux espèces tropicales, nous avons utilisé une approche phylogénétique sur un échantillon composé de 38 espèces tempérées représentant les huit sections classiquement reconnues et 86 espèces présumées provenant de régions tropicales d'Afrique, d'Amérique et d'Asie. Des analyses utilisant des méthodes bayésienne et de maximum de vraisemblance montrent de façon congruente que seul un tiers des espèces tropicales appartiennent aux sections basées sur les espèces tempérées, dont certaines contiennent des espèces tropicales provenant d'Amérique aussi bien que d'Afrique ou d'Asie. En revanche, les deux tiers restants se répartissent dans deux types de clades distincts : ceux ne comportant que des espèces tropicales d'Amérique et ceux ne comportant que des espèces tropicales d'Afrique+Asie. Ces résultats ouvrent la voie vers une nouvelle classification des agarics et montrent que des diversifications d'espèces se sont produites indépendamment en Amérique et en Afrique/Asie. Le nombre total d'espèces décrites à ce jour est proche de 400 dont environ la moitié en régions tropicales. Comme une grande partie des espèces tropicales utilisées dans nos analyses sont probablement nouvelles, le nombre d'espèces tropicales non décrites est certainement très élevé. De plus, l'hypothèse d'une origine paléotropicale (Afrique + Asie) du genre est émise à partir de ces résultats mais reste toutefois à être confirmée. La tâche reste considérable pour caractériser de nouvelles sections et espèces mais certaines ont été déjà décrites avec des résultats montrant leur potentialité pour leur culture en régions tropicales, voire en France en saison chaude. Ces travaux initiés par la thèse de Ruilin Zhao ont formellement débutés en 2010 principalement dans le cadre d'un projet supporté par le REX EDIT (European Distributed Institute of Taxonomy) avec des participants en Belgique, Chine, Espagne, France, Thaïlande, Togo, et USA et se poursuivent dans le cadre de programmes principalement soutenus par la France (Siam et BioAsie), la Thaïlande et La Chine.

Zhao R., Karunarathna S., Raspé O., Parra L. A., Guinberteau J., Moinard M., De Kesel A., Barroso G., Courtecuisse R., Hyde K. D., Guelly A. K., Desjardin D. E., Callac P. (2011) Major clades in tropical *Agaricus*. *Fungal Divers* DOI 10.1007/s13225-011-0136-7

Zhao R.-L., Hyde K. D., Desjardin D. E., Raspé O., Soyong K., Guinberteau J., Karunarathna S. C., Callac P. (2011) *Agaricus flocculosipes* sp. nov., a new potentially cultivatable species from the tropics. *Mycoscience* (accepté)

**Mots-clés :** *Agaricus*, Basidiomycota, biodiversité tropicale, taxinomie, biogéographie, ITS, phylogénie, domestication

## Découverte d'une nouvelle espèce de champignon, appartenant à la famille des Entolomataceae : *Clitopilus djellouliae*

R. Djelloul (1), M. Contu, A. Vizzini, P. Roux, G. Garcia

(1) Centre Universitaire d'El Tarf, Algérie

Une nouvelle espèce de *Clitopilus* sect. *Rhodocybe* a été décrite, sur la base de matériel récolté en France lors des sorties mycologiques réalisées durant le congrès de la FAMM, qui s'est déroulé à Vernet-les-Bains (Pyrénées Orientales), en 2002. Cette espèce récoltée sous *Cedrus sp.*, se caractérise par des basidiomes de petite taille aux colorations brun ochracé, des spores à forte ornementation, des pseudocystides dextrinoïdes à l'état frais et des hyphes sans boucles. Cette espèce au départ, fut confondue à *Clitopilus perpusillus* (Malençon & Contu) Contu vu l'aspect gracile et les colorations brun ochracé. Après une étude approfondie et une comparaison avec tous les taxons de *Clitopilus* sect. *Rhodocybe* (Maire) Contu1 jusqu'ici décrits, il n'a été possible d'attribuer à aucun taxon connu l'espèce en question.

Baroni, T. J. 1981. A revision of the genus *Rhodocybe* Maire (Agaricales). Beihefte zur Nova Hedwigia, 67, p. 1-194.

Baroni, T. J., & Gates, G. M. 2006. New species and records of *Rhodocybe* (Entolomataceae, Agaricales) from Tasmania. Australian Systematic Botany, 19, p. 343-358.

Baroni, T. J. & Watling R. 1999. Taxonomic and mycogeographic notes on some Malaysian fungi IV. Notes on *Clitopilus* and *Rhodocybe*. Mycotaxon, 72, p. 57-72.

Clemençon, H. 2004. Cytology and Plectology of the Hymenomycetes. Bibliotheca Mycologica, 199, p. 1-488.

Co-David, D., Langeveld, D., & Noordeloos, M. E. 2009. Molecular phylogeny and spore evolution of Entolomataceae. Persoonia, 23, p. 147-176.

Contu, M. 2009. Revisione tassonomica e nomenclaturale dei generi *Clitopilus* e *Rhodocybe*. In : Maire, J.-C., Moreau, P.-A., & Robich, G. (Ed.) - Compléments a la Flore des champignons superieurs du Maroc de G. Malençon & R. Bertault. Nice, France : Confédération Européenne

*Mots-clés* : *Clitopilus*, *Rhodocybe*, Taxinomie, Basidiomycota

## Métagénomique de la microflore du bois de la vigne

A. Gautier (1), L. Brigitte (3), J. Vallance (2), E. Bruez (2), N. Lapalu (3), J. Amselem (3), V. Laval (1), P. Rey (2), M-H. Lebrun (1)

(1) INRA, UR BIOGER-CPP, Grignon, France

(2) INRA, UMR Santé Végétale, Bordeaux, France

(3) INRA, Plateforme URGI-BIOGER, Versailles, France

Plus de 10% du vignoble français est actuellement improductif pour cause de maladies affectant le bois des ceps. L'ESCA, la principale de ces maladies, est en continuelle progression dans le vignoble français et mondial. Cette maladie est préoccupante car il n'existe aucun traitement efficace depuis l'interdiction de l'arsénite de sodium en 2001. L'ESCA serait provoquée par un complexe de micro-organismes (essentiellement des champignons des genres *Phaeoconiella*, *Chlamydospora*, *Phaeoacremonium* et *Botryosphaeria*) dont les rôles respectifs restent mal connus. La caractérisation de la microflore colonisant les tissus ligneux des ceps de vigne a été entreprise par une approche de métagénomique consistant en un séquençage haut débit (pyroséquençage 454 Roche) de régions génomiques d'intérêt taxonomique (ITS et ADNr 18S fongique, ADNr 16S bactérien) amplifiés à partir d'ADN extraits de bois de vigne à l'aide d'amorces spécifiques de chaque type d'organisme. Un témoin de pyroséquençage a été constitué avec un mélange d'ADN de champignons connus. Un ensemble de 8 échantillons indépendants issus de zones différentes sur des ceps symptomatiques et asymptomatiques ont été utilisés pour amplifier ces régions génomiques par PCR en vue de leur séquençage. Ainsi, 35 produits de PCR étiquetés par leurs amorces sont mélangés pour la construction des banques de pyroséquençage. Parallèlement à ces expériences, le clonage/séquençage de certains produits de PCR a permis de montrer la spécificité des amorces 18S et ITS choisies. Cependant des problèmes de spécificité des primers de l'ADNr 16S ont été rencontrés et de nouvelles amorces seront utilisées pour le second run. Les expériences de pyroséquençage ont été réalisées sur la plateforme Genotoul de Toulouse. Le nombre de séquences obtenues par échantillon varie de 100 à 100 000 séquences brutes pour un total de 1335000 séquences pour le run. Les analyses bio-informatiques ont été d'abord réalisées sur l'échantillon correspondant à un mélange d'ADN fongiques connus, à l'aide d'un pipeline reposant sur les logiciels QIIME et MEGAN. Cette analyse montre qu'il existe un nombre significatif de variations nucléotidiques provenant de la PCR et du séquençage 454, mais qu'il est néanmoins possible de regrouper les séquences par espèce par ces deux méthodes. Cette analyse montre l'intérêt et les limites du pyroséquençage de produits de PCR de régions génomiques.

*Mots clés* : vigne, métagénomique, microbiote, pyroséquençage

## Isolement et caractérisation de souches de champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA)

M. Molès (1)\*, A. Haouy (1)\*, D. Formey (1,2), F. Attia (2, &), C. Roux (1), G. Bécard (1)

(1) Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, UMR 5546 CNRS-Université Paul Sabatier Toulouse III, F-31326 Castanet Tolosan, France

(2, &) ont également contribué au projet : Monique Gueunier, Julie Loubradou & Sébastien Roy, Agronutrition, Parc Activestre – 3, avenue de l'orchidée – 31390 Carbonne

\* : auteurs ayant contribué à ce travail à la même hauteur

Alors que l'accroissement démographique mondial et la réduction des surfaces de terres arables nous obligent à maintenir un niveau intensif de production agricole, la récente prise de conscience de la dégradation de l'environnement par l'utilisation intensive des engrais minéraux, mais aussi la raréfaction annoncée des ressources en phosphore nous incitent peu à peu à mettre en œuvre des pratiques culturales plus respectueuses de l'environnement. Dans ce contexte, l'exploitation des symbioses endomycorhiziennes est un enjeu d'avenir. Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) appartiennent à la famille des Gloméromycètes et sont capables d'établir une symbiose avec près de 80% des plantes terrestres [1]. Les CMA améliorent la nutrition hydrique et minérale de leur plante hôte en échange de composés carbonés issus de la photosynthèse. Pour répondre aux objectifs d'un projet de recherche portant sur la production de biofertilisants [2], un premier résultat a été de créer une collection de CMA d'intérêt agronomique. A partir de prélèvements représentatifs de la diversité pédoclimatique française, des cultures sur plantes pièges (Poireau et Persil) ont permis d'obtenir une collection *in vivo* de 6 morphotypes majoritairement représentés. Un second volet a été de définir un éventail d'outils de typage et/ou de quantification des isolats de CMA permettant leur suivi au champ. Déjà largement exploitée, l'analyse de la région nucléaire 18S permet une identification à l'échelle de l'espèce [3]. Pour une identification à l'échelle de la souche, nous avons comparé l'efficacité de marqueurs moléculaires nucléaires de type microsatellite issus de la littérature avec des marqueurs mitochondriaux issus de travaux de l'équipe (cf Formey *et al.*, Session 3). Les marqueurs microsatellites nucléaires [4] ont été utilisés avec succès pour distinguer différentes souches de *Glomus irregulare*. Concernant les marqueurs mitochondriaux que nous avons définis sur des zones du génome mitochondrial caractéristiques des différentes souches de notre collection *in vitro*, leur utilisation a permis le typage des souches par PCR, y compris à partir d'une seule spore. L'exploitation des marqueurs mitochondriaux nous permettra le suivi de souche et leur quantification par qPCR. Après différenciation des souches par typage moléculaire, leur efficacité agronomique sera testée sur culture de tomate. Les différentes souches seront par la suite introduites en culture *in vitro*.

[1] Newman EI and Reddell P. 1987. *New Phytol* 106:745-51

[2] Projet NEOFERTIL (financement FUI), regroupant partenaires privés (Agronutrition et Arterris) et publics (Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales et Laboratoire de Génie Chimique), dont l'objectif est d'utiliser des microorganismes symbiotiques et à caractère PGPR dans la formulation de biofertilisants

[3] Simon L, *et al.* 1993. *Nature* 363:67-69

[4] Mathimaran N, *et al.* 2008. *Fungal Genet Biol* 45:812-7



**Biology of *Agaricus subrufescens* and identification of bioactive molecules in plant protection**

**R. C. Llarena Hernández** (1), M. Largeteau (1), A-M. Farnet (2), C. Regnault-Roger (3), J-M. Savoie (1)

(1) UR1264, Mycologie et Sécurité des Aliments, INRA, Centre de Recherche Bordeaux-Aquitaine, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France

(2) Equipe Ecologie Microbienne et Biotechnologies, UMR CNRS IRD 6116, Institut Méditerranéen d'Ecologie et de Paléoécologie, Faculté des Sciences et Techniques de St Jérôme, Université Paul Cézanne, 13397 Marseille, France

(3) UFR Sciences et Techniques, UPPA (Université Pau et Pays de l'Adour), 64012 Pau Université, France

In the last years *A. subrufescens* Peck became a mushroom of interest by its medical and pharmacological properties and the commerce increases continuously. Knowledge on the biology of this fungus is needed for development of cultivation techniques and selection of strains to increase mushroom yield and production of bioactive molecules. In the present work commercial and wild strains of *A. subrufescens* from different countries were evaluated for i) mycelium growth at different temperatures, ii) the efficiency of compost colonisation, iii) mushroom yield, iv) mushroom chemical composition obtained by  $^{13}\text{C}$  NMR and v) abilities as biological control agent. Mycelium growth rates were measured at 25, 28, 30, 32 and 35 °C. The majority of strains grew better at 28 °C compared to the other temperatures. Most of these strains originated from Brazil and had higher growth rates than European strains. A few numbers resisted 35 °C. The efficiency of compost colonization was estimated by measuring  $\text{H}_2\text{O}_2$  after 20 days of incubation. Most of the strains show  $\text{H}_2\text{O}_2$  levels between 40-120 nmoles/g of compost and five strains showed levels between 210-560 nmoles/g of compost. There was no relationship between compost colonization and others parameters studied (yield, mean weight of sporophore, fruiting earliness and mycelium growth *in vitro*). Mushroom yield ranged from 4 to 23 g/100 g of compost for wild strains and from 5 to 17% for commercial strains. Three wild strains collected in Europe exhibited the highest productivity (20-23%) and earliness. We observed in a first time that the more productive and earliest strains are the slowest in mycelium growth rate *in vitro* at 28°C; they are the three European strains and show different morphology compared to cultivars. The mycelium and the sporophores of 13 strains were analyzed by  $^{13}\text{C}$  CP MAS NMR. The peak intensities corresponding to the carbonyl, aromatic and aliphatic carbon groups were higher in sporophore than in mycelium samples. The O-alkyls carbons that correspond to the section polysaccharide are higher in mycelium than in sporophores. Qualitative differences were found between mycelium and sporophores spectra. The inhibition potential of sporophores hydrophilic extracts obtained at 100 °C and 4 °C of CA487 and CA454 strains were tested on *Pseudomonas tolasii*. These preliminary results show a phenotypic diversity between strains of *A. subrufescens* that could be useful for productivity and breeding.

*Keywords:* mycelium growth, compost colonization, yield,  $^{13}\text{C}$  CP MAS NMR

## Développement et optimisation d'un nouvel outil de PCR temps réel duplex pour la détection de *Plasmopara halstedii* dans les semences de tournesol

R. Ioos (1), C. Fourrier (1), V. Wilson (1), D. Tourvieille de Labrouhe (2)

(1) ANSES, Laboratoire de la Santé des Végétaux, Unité de mycologie, Domaine de Pixérécourt, 54220 Malzéville, France

(2) INRA, Plate-Forme IPM, UMR 1095, Domaine de la Crouelle, 234 avenue du Brézet, F-63100 Clermont-Ferrand, France

Le mildiou du tournesol est causé par l'oomycète de quarantaine *Plasmopara halstedii*. Ce parasite obligatoire peut se disséminer sur de longues distances via des semences infectées. Afin de prévenir l'introduction et la dissémination de génotypes tolérants aux fongicides ou agressifs sur les cultivars actuels de tournesol, un contrôle strict des lots de semences est nécessaire. Le contrôle sanitaire des lots mis en circulation requiert l'utilisation d'un test de dépistage du parasite ayant fait preuve de sa fiabilité et de sa sensibilité. Notre objectif était de mettre au point un nouveau test de détection par qPCR ciblant une région polymorphe de l'ADNr et d'optimiser l'étape d'extraction d'ADN à partir d'un substrat contenant typiquement beaucoup de composés inhibiteurs, source de résultats faussement négatifs. Un test duplex incluant un contrôle interne de qualité d'ADN a ainsi été développé. Les conditions de qPCR ont été optimisées et validées statistiquement pour garantir une sensibilité et une spécificité maximale, et nous avons en outre confirmé que ce test était capable de détecter tous les génotypes (races) disponibles de *P. halstedii*. Enfin, nous avons utilisé un processus expérimental pour définir un protocole de broyage et d'extraction d'acides nucléiques permettant de produire un ADN de qualité optimale à partir de semences de tournesol, et de réduire au maximum la teneur en composés inhibiteurs. Nous avons au final conservé les options permettant d'améliorer statistiquement la sensibilité du test à partir de lots de semences contaminés de façon calibrée par *P. halstedii*. Les critères de performance du test ont été ensuite évalués, permettant de définir sa répétabilité, reproductibilité, robustesse, et différents contrôles réactionnels ont été mis en place pour fiabiliser les analyses en conditions de routine, avant son transfert à la communauté internationale de laboratoires chargés des analyses réglementaires. Ce processus de développement et de validation pourrait être appliqué à de nombreux autres tests pour lesquels l'extraction d'ADN est une étape critique de l'analyse.

*Mots-clés* : Downy mildew, inhibition, detection, real-time PCR

## R-Syst Champignon : un réseau pour l'identification et la taxonomie des champignons

V. Laval (1), M. Buée (2), M-H. Lebrun (1), R-SYST Fungi consortium, A. Franc (3)

(1) INRA, UR1290 BIOGER\_CPP, 78850 Thiverval-Grignon, FRANCE

(2) INRA, UMR IAM "Interactions Arbres/Micro-Organismes" 54280 Champenoux, France

(3) INRA, UMR BIOGECO, Pierroton, 33612 Cestas, France

Le réseau R-Syst (réseau de systématique) est un consortium de scientifiques de l'INRA impliqués dans la taxonomie moléculaire et classique, ouvert aux autres Institutions. Ce réseau vise à établir un dictionnaire des espèces mettant en relation leurs caractères phénotypiques et génotypiques dans un cadre d'une systématique phylogénétique. L'originalité de ce réseau est de regrouper des taxonomistes de plusieurs règnes: les bactéries phytopathogènes, les micro-algues d'eau douce (diatomées), des arbres, des invertébrés (insectes, nématodes) et les champignons. Le groupe R-Syst fongique est coordonné par deux unités de recherche INRA: "Interactions Arbres / Micro-Organismes" (IAM) et BIOGER\_CPP. L'ensemble des équipes du réseau se retrouvent autour d'une base de données et d'outils communs. Les objectifs du groupe R-Syst-champignon sont i) de développer et alimenter la base de données pour l'identification des espèces comprenant des données moléculaires fiables associées à des échantillons de collections et ii) de participer à l'animation de la communauté fongique française autour des thématiques de l'écologie et de la taxonomie des champignons. R-syst vise à construire une base de données (répétition) centralisée, accessible à tous. La donnée d'entrée est le spécimen décrit phénotypiquement, géo-localisé et associé à des données de séquençage de barcoding ou de gènes d'intérêt taxonomique. La base de données est alimentée par les projets scientifiques des équipes participantes et par des projets institutionnels tels que Speed-ID (2010-2011) et Bibliothèque du vivant (2011-2013). Le réseau R-Syst développe aussi des outils bioinformatiques pour les analyses de barcoding et de métagénomique (Franc *et al.*, 2011). Enfin, le réseau participe à des consortia internationaux pour 'barcoding' de la vie (BOL) (L. Kermarrec, *et al.*, 2011 ; Laval *et al.*, 2011 ).

Franc A, *et al.* A pipeline for automatic taxonomic community inventories on data from NGS: An example with freshwater diatoms. 4<sup>th</sup> International Barcode of Life Conference, Adélaïde (2011).

Kermarrec L, *et al.* Efficiency of 3 genetic markers to determine the composition of a diatom assemblage using next generation sequencing. 4<sup>th</sup> International Barcode of Life Conference, Adélaïde (2011).

Laval V, Buée M, Lebrun MH, R-SYST Fungi consortium and Franc A, R-SYST Fungi: A French consortium for fungal barcoding and taxonomic identification. 4<sup>th</sup> International Barcode of Life Conference, Adélaïde (2011).

*Mots-clés* : systématique, Barcoding, taxonomie, base de données

## Evaluation de la spécificité d'hôte de *Botrytis cinerea* sur tomates et laitues par caractérisation génotypique et phénotypique

C. Leyronas, F. Bryone, M. Duffaud, P. Nicot

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

*Botrytis cinerea* est un champignon phytopathogène polyphage. Il a longtemps été considéré comme un champignon généraliste. Nous nous sommes intéressés à son éventuelle spécificité vis-à-vis de la tomate et de la laitue. Ces cultures hôtes sont souvent associées en rotation dans les tunnels maraichers. Mieux connaître la possibilité de transmission de l'inoculum d'une espèce à l'autre permettrait de mieux gérer les rotations en vue de limiter l'apparition d'épidémie de pourriture grise. Des souches de *B. cinerea* ont été prélevées sur des plants de tomates et de laitues cultivées conjointement dans un même tunnel. Ces souches ont été génotypées à l'aide de neuf marqueurs microsatellites (Fournier *et al.*, 2002). Un sous échantillon de souches a été testé sur plantes entières de tomates et sur feuilles détachées de laitue afin d'en déterminer l'agressivité. Des outils de génétique des populations et l'agressivité sur plantes ont été utilisés pour évaluer la spécificité d'hôte de *B. cinerea*. Certains indices de génétique des populations suggéraient une spécificité d'hôte de *B. cinerea* sur tomates et laitues. Ainsi, les souches provenant de laitues présentaient une plus grande diversité clonale ( $R=0.67$ ) que celles de tomates ( $R=0.37$ ). La différenciation génétique entre les souches laitues et tomates était faible mais significative ( $F_{st}=0.03$ ). Enfin, les souches laitues et tomate n'étaient majoritairement pas assignées aux mêmes groupes génétiques définis par le logiciel Structure. D'autres éléments suggéraient le contraire. Ainsi, parmi les 86 souches génotypées, il existait 43 haplotypes différents, dont 4 étaient partagés par la laitue et la tomate. Les groupes « souches tomates » et « souches laitues » présentaient tous deux une forte diversité génétique (indice de Simpson compris entre 0.91 et 0.96). Leur déséquilibre de liaison était significatif et dans le même ordre de grandeur : 0.23 et 0.24 respectivement pour les souches tomate et laitue. Les tests d'agressivité ont été réalisés avec 20 souches prélevées sur tomate et 20 souches prélevées sur laitue. Ils ont montré que les souches prélevées sur tomate étaient significativement plus agressives que les souches prélevées sur laitue lorsqu'elles étaient inoculées sur tomate. De même, les souches prélevées sur laitue étaient plus agressives que les souches prélevées sur tomate lorsqu'elles étaient inoculées sur laitue. Ces résultats vont dans le sens de l'existence d'une spécificité d'hôte.

Fournier *et al.* 2002. *Mol. Ecol. Notes* 2:253-255

*Mots clés* : *Botrytis cinerea*, spécificité d'hôte, tomate, laitue

## La truffe, des écosystèmes forestiers spontanés aux plantations

E. Taschen (1), M. Sauve (1), F. Martin (2), C. Murat (2), F. Richard (1), M.-A. Selosse (1)

(1) Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, CNRS, UMR 5175, Equipe Interactions Biotiques, 1919 Route de Mende, 34293, Montpellier, cedex 5, France

(2) UMR INRA-UHP "Interactions Arbres/Micro-Organismes" INRA-Nancy, 54280 Champenoux, France

La production de Truffes noires (*Tuber melanosporum*) a été améliorée par la mise en place de plantations d'arbres inoculés : cependant, leur passage en production reste aléatoire, malgré des pratiques empiriques variées (1). Au bilan, la production est actuellement en déclin. Ce poster présente mon travail de thèse (2011-2014) qui revient sur l'écologie de la Truffe dans les écosystèmes forestiers où elle se développe naturellement, pour étudier les différences avec son comportement en plantation. En effet, la truffe colonise spontanément des boisements jeunes où des strates herbacées et arbustives se superposent (truffières dites naturelles), qui sont souvent éliminées en plantation. Cette affiche présente les trois axes de recherche et les méthodes expérimentales mis en oeuvre dans ma thèse : 1) Quel est le réseau d'interaction de la truffe dans son environnement naturel ? Cette question sera abordée en décrivant par typage moléculaire (*barcoding* sur l'ITS) le cortège mycorhizien des arbres et arbrisseaux en truffière naturelle. Sur un plan fondamental, cette vision de la symbiose mycorhizienne comme un réseau (2) permet d'envisager des interactions indirectes entre plantes, et de déterminer quelles plantes sont les réservoirs majeurs de diversité mycorhizienne ou, plus particulièrement, de Truffe. 2) Quel est l'effet de la Truffe sur les plantes *a priori* non mycorhizées par elle, mais présentes dans ou autour des brûlés que détermine la présence de la truffe (3) ? Réciproquement, quels sont leurs effets sur la Truffe et la mycorhization des arbres ? Une étude expérimentale en rhizotrons permettra de réduire la complexité du système et de mieux comprendre la nature des interactions, pour des espèces de référence. 3) Quelle est la structure génétique et la répartition des types sexuels (*mating types*) de la truffe dans les truffières naturelles ? Une approche de génétique des populations (marqueurs neutres et sous sélection), sur les carpophores, les mycorhizes et le sol, nous permettra de décrire la structure spatiale et temporelle des populations. Sur la base de ces données, et en comparaison de celles acquises en plantation (4), nous tenterons de comprendre l'impact de la trufficulture en plantation sur la diversité, l'appariement sexuel et la structure des populations de truffes. Ce travail valorise l'acquisition récente du génome de la Truffe (5), dans le cadre de l'ANR SYSTRUF. Sur un plan plus général, il tentera d'intégrer les interactions homme-champignon dans le contexte actuel de domestication de la truffe.

(1) Sourzat P. 1989, 1994 DDSA du Lot, 2002, Lycée professionnel agricole de Cahors-Le Montat « *Guide pratique de trufficulture* ».

(2) Selosse M.-A., *et al.*, 2006. *Trends in Ecology and Evolution*, 21: 621-628.

(3) Plattner et Hall I.R., 1995. *Mycological Research*, 11:1367-1370.

(4) Rubini A., *et al.*, 2010. *New phytologist*, 189:723-735.

(5) Martin F., *et al.* 2010. *Nature*, 464 :1033-1038.

*Mots-clés* : truffe, réseaux mycorhiziens, plantes compagnes, génétique des populations, *mating type*.

## Functional diversification of fungal glutathione transferases from the Ure2p class

A. Thuillier (1), A. A. Ngadin (1,2), C. Thion (3), P. Billard (3), J-P. Jacquot (1), E. Gelhaye (1), M. Morel (1)

- (1) Unité Mixte de Recherches INRA UHP 1136 Interaction Arbres Microorganismes, IFR 110 Ecosystèmes Forestiers, Agroressources, Bioprocédés et Alimentation, Faculté des Sciences et Technologies, Nancy Université BP 70239, 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex, France
- (2) Department of Biological Sciences, Faculty of Science and Technology, Universiti Malaysia Terengganu, 21030 Kuala Terengganu, Malaysia
- (3) Laboratoire des Interactions Microorganismes-Minéraux-Matière Organique dans les Sols, UMR 7137 CNRS—UHP, Faculté des Sciences et Technologies, Nancy Université BP 70239, 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex, France

The glutathione-S-transferase (GST) proteins represent an extended family involved in detoxification processes. They are divided into various classes with high diversity in various organisms. The Ure2p class is especially expanded in saprophytic fungi compared to other fungi. This class is subdivided into two subclasses named Ure2pA and Ure2pB, which have rapidly diversified among fungal phyla. We used *Phanerochaete chrysosporium* as a model to correlate the sequence diversity with the functional diversity of these glutathione transferases. The results show that among the nine isoforms found in *P. chrysosporium*, two belonging to Ure2pA subclass, are exclusively expressed at the transcriptional level in presence of polycyclic aromatic compounds. Moreover, we have highlighted differential catalytic activities and substrate specificities between Ure2pA and Ure2pB isoforms. This diversity of sequence and function suggests that fungal Ure2p sequences have evolved rapidly in response to environmental constraints.

Anne Thuillier, Andrew A. Ngadin, Cécile Thion, et al., "Functional Diversification of Fungal Glutathione Transferases from the Ure2p Class," International Journal of Evolutionary Biology, vol. 2011, Article ID 938308, 9 pages, 2011. doi:10.4061/2011/938308

*Mots-clés* : *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete carnososa*, saprophytic activity, glutathione transferase, Ure2p, polycyclic aromatic hydrocarbons

**Transformation de deux Ascomycètes : *Septoria musiva*, et *S. populicola* agents pathogènes du peuplier en Amérique du Nord****L. Varain (1), L. Bernier (2), P. Tanguay (3)**

(1) Université Laval, Québec (Québec) G1V 0A6, Canada 1030, avenue de la Médecine

(2) Centre de Recherche en Biologie Forestière, Université Laval, Sainte-Foy (QC), Canada, G1K 7P4

(3) Centre de Foresterie des Laurentides, Sainte-Foy (QC), Canada, G1V 47C

La culture de peuplier s'est développée en Amérique du Nord, depuis ces 40 dernières années. En parallèle, une maladie fongique est apparue en peupleraie : le chancre septorien, causé par l'Ascomycète *Septoria musiva* (téléomorphe *Mycosphaerella populorum*). Cet agent pathogène est responsable de la formation de chancres sur tronc, et jeunes branches, mais également de taches foliaires. Ces symptômes provoquent une perte de rendement dans la peupleraie (1). D'abord considérée comme endémique à l'Amérique du Nord, cette maladie a été rapportée en 2010 au Brésil (2), et représente un danger pour les peupleraies d'Europe. Le second Ascomycète étudié est l'agent pathogène *S. populicola* (*Mycosphaerella populicola*) responsable de taches foliaires sur peuplier. Bien que causant des dégâts moins importants, il a déjà été rapporté un cas de chancre dans des conditions contrôlées. Il représente donc un danger potentiel. Mon projet de maîtrise consiste à mettre en place une technique de mutation pour ces deux champignons dans un premier temps, pour dans un second temps cibler des gènes d'intérêt : l'homologue de Polyketide Synthase et les homologues des gènes Phosphoribosylaminoimidazole-succinocarboxamide synthase et Phosphoribosylaminoimidazole carboxylase. J'ai déjà réussi à obtenir des mutants pour la souche de *S. musiva*, par la technique de transformation de conidies en utilisant *Agrobacterium tumefaciens*. Le plasmide utilisé lors de cette première expérience était pPT1, contenant notamment la résistance à l'hygromycine et à l'ampicilline, deux marqueurs de sélection permettant la sélection de cellules transformées. Les premiers résultats ont montré une seule insertion du plasmide dans le génome, pour 10 souches sur 12. Les deux dernières ayant deux copies insérées. Pour l'espèce *S. populicola*, des transformants n'ont pu être obtenus. L'hypothèse avancée est le manque de conidies lors du prélèvement. Par la suite, je vais réaliser avec un nouveau plasmide (pPL1) de nouvelles mutations de ces deux espèces. Ce nouveau plasmide est plus petit que le premier, mais possède les mêmes caractéristiques, excepté qu'il a la résistance à la kanamycine, et non plus à l'ampicilline. Lors de ma communication, je présenterai la méthodologie employée, et mes résultats préliminaires sur la transformation de ces deux espèces obtenue avec pPL1, notamment sur le nombre de transformants obtenus en moyenne, et le nombre de copies insérées, ainsi que la suite des évènements.

1. Feau N., Mottet M. J., Périnet P., Hamelin R. C., Bernier L. (2010), Recent Advances related to poplar leaf spot and canker caused by *Septoria musiva*, Canadian Journal of Plant Pathology, 32:122-134

2. Carneiro J. S., de la Bastide P. Y., Chabot M., Lerch L., Hintz W. E. (2010), Suppression of polygalacturonase gene expression in the phytopathogenic fungus *Ophiostoma novo-ulmi* by RNA interference, Fungal Genetics and Biology, 47:399-405

*Mots-clés* : *Septoria musiva*, *Septoria populicola*, chancre septorien, *Mycosphaerella*

## Écologie fonctionnelle des interactions vigne - communauté microbienne épiphyte dans un contexte de lutte biologique

L. Vincenot, M. Perazzolli, I. Pertot

Sustainable Agro-ecosystems and Bioresources Department, Fondazione Edmund Mach, via E. Mach 1, 38010 San Michele all'Adige, Italie

La culture de la vigne (*Vitis vinifera*) couvre plus de 7 Mha dans le monde, impliquant l'utilisation massive de phytosanitaires chimiques pour éviter les pertes de qualité et de rendement dues aux pathogènes et parasites. La lutte biologique est une stratégie alternative aux traitements chimiques à fort impact environnemental, qui consiste à (ré)introduire des organismes auxiliaires dans les écosystèmes viticoles pour limiter les populations de parasites, entrer en compétitions avec les pathogènes, voire renforcer les défenses naturelles de la plante. Les communautés microbiennes épiphytes des feuilles de vigne peuvent être un réservoir de micro-organismes auxiliaires naturels pour contrôler les agents pathogènes [1, 2]; nous avons choisi d'étudier au niveau moléculaire les interactions fonctionnelles au sein d'une communauté microbienne épiphyte modèle combinant des microorganismes naturellement présents sur les feuilles de vigne. Un postulat de la recherche en écologie microbienne appliquée à la lutte microbiologique est la stabilisation et/ou l'amélioration de l'efficacité protectrice par la combinaison de plusieurs souches ou espèces auxiliaires [3, 4]. Nos premières expériences contre les principaux agents pathogènes de la vigne (*Plasmopara viticola*, *Botrytis cinerea*, *Erysiphe necator*) montrent en effet une complémentarité des mécanismes de bio-contrôle au sein d'une communauté de *Bacillus subtilis*, *Metschnikowia viticola* et *Trichoderma atroviride*. Nous souhaitons comprendre au niveau moléculaire les processus de synergie/additivité des mécanismes de bio-contrôle de chaque composant. Par une approche de métatranscriptomique, nous souhaitons étudier la modulation de gènes-clés en conditions de bio-contrôle, pour les souches étudiées seules ou en communauté, et examiner leur complémentarité. Cette démarche nous permettra également de sélectionner *a posteriori* des gènes caractéristiques d'activité de bio-contrôle, qui seront utilisés comme marqueurs moléculaires pour le suivi fonctionnel de communautés soumises à des stress abiotiques liés au changement climatique et aux pratiques culturales. Notre étude de l'écologie fonctionnelle des micro-organismes épiphytes de la vigne pourrait mener à l'identification de facteurs déterminants pour une efficacité stabilisée et accrue des agents de bio-contrôle en viticulture, et le renforcement des communautés microbiennes naturelles auxiliaires.

(1) Król E, Machowicz-Stefaniak Z, 2008. *Biologia*, 63:466-470

(2) West ER, Cother EJ, Steel CC, Ash GJ, 2010. *Canadian Journal of Microbiology*, 56:209-216

(3) Guetsky R, Shtienberg D, Elad Y, Dinoor A, 2001. *Phytopathology*, 91:621-627

(4) Stockwell VO, Johnson KB, Sugar D, Loper JE, 2011. *Phytopathology*, 101:113-123

*Mots-clés* : communauté microbienne épiphyte, lutte microbiologique, écologie fonctionnelle



**Posters - Session 3 :**

**Génomique des Champignons**

## Role of *pacC* in pH adaptation in *Magnaporthe oryzae*: a transcriptomic analysis

E. Ortega (1,3), P. Landraud (1), L. Mauprivez-Albinet (2), G. Billon-Grand (1), N. Poussereau (1), **C. Bruel** (1)

(1) Université Lyon 1, UMR 5240: Microbiologie, Adaptation et Pathogénie; 10 Rue Dubois, 69622 Villeurbanne, France

(2) Centre de Recherche Bayer SAS, 14 impasse Pierre Baizet, BP 99163, 69263, Lyon Cedex 09, France

(3) Current address: CIRAD - UMR BGPI, TA A 54/K, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier cedex 5, France

Fungi are known to adapt to pH via gene regulation by the specific transcription factor PacC. The role of PacC in the rice pathogen *Magnaporthe oryzae* has been explored via comparison of a *PACC* deletion strain to its parent strain (Landraud et al., unpublished). Deletion of *PACC* caused a progressive loss in growth rate from pH 5 to pH 8, a loss in conidiation at pH 8 *in vitro*, a decreased production of extracellular enzymes and a partial loss in virulence towards barley and rice. In this work, we report on a comparative whole-genome expression study of the parental versus the *PACC* deletion strain. This investigation showed that PacC affects, directly or indirectly, the transcription of hundreds of genes. It also showed that PacC acts as either an activator or a repressor, and that it targets more genes under alkaline than acidic growth conditions. Numerous genes that are responsible for the production of secreted enzymes, transporters and stress related proteins were shown to depend upon PacC for transcriptional activation under alkaline conditions. Besides, genes related to thirty metabolic pathways were shown to be differentially expressed in the absence of PacC. Unexpectedly, eight of these pathways relate to nitrogen and amino-acids metabolism, and quantitative PCR analysis as well as biochemical studies allowed the demonstration of, indeed, a relationship between the PacC-mediated adaptation to pH and these metabolisms in *M. oryzae*.

*Keywords:* pH, metabolism, nitrogen

### Protéines secrétées *in vitro* par *Magnaporthe oryzae*

M.-J. Gagey (1), D. Vincent (2), P. Gauthier (3), C. Job (1), M.-H. Lebrun (4)

(1) UMR 5240 CNRS/Bayer 14-20 rue Pierre Baizet BP 9163 69263 Lyon cedex 09

(2) UMR BIOGECO, INRA, Bordeaux

(3) Bayercropscience 14-20 rue Pierre Baizet BP 9163 69263 Lyon cedex 09

(4) UMR 1290 BIOGER-CPP INRA-AgroParisTech avenue Brétignières 78850 Thivernal-Grignon

*Magnaporthe oryzae* est le champignon phytopathogène responsable de la pyriculariose, la maladie la plus dommageable pour la riziculture dans le monde. Chez *Magnaporthe oryzae* 20% des gènes exprimés pendant l'infection codent pour des protéines secrétées. Nous avons développé une analyse protéomique (LC MS/MS) du sécrétome *in vitro* en utilisant deux techniques différentes : les protéines secrétées ont été séparées soit par électrophorèse 2D (puis analyse des spots excisés) soit par électrophorèse monodimensionnelle (SDS PAGE puis analyse des bandes de 1.5 mm découpées). Nous avons comparé la production de protéines secrétées dans différents milieux (TaNaKa+yeast extract, Rice Bran et V8). Nous nous sommes intéressés aux Petites Protéines Sécrétées (60 identifiées dont 57% possèdent un peptide signal), possibles effecteurs. Une analyse bioinformatique des 422 protéines uniques identifiées (dont 60% possèdent un peptide signal) a permis de les grouper en classes fonctionnelles. Nous avons observé des différences entre les milieux. Nous avons établi que 30% des protéines identifiées dans le sécrétome *in vitro* étaient aussi exprimées durant l'infection (phase tardive).

*Mots-clés* : sécrétome, *Magnaporthe oryzae*, protéomique

## Fungal species resources: an integrated system for structural and functional genome annotation

N. Lapalu (1,2), J. Amselem (1,2), B. Brault (1) (2), L. Brigitte (1,2), J. Kreplak (1), F. Alfama (1), A. Keliet (1), E. Kimmel (1), I. Luyten (1), S. Reboux (1), D. Steinbach (1), M-H. Lebrun (2), H. Quesneville (1)

(1) INRA, URGI, Versailles, France

(2) INRA, BIOGER, Thiverval Grignon, France

With the recent development of new generation sequencing technologies, a large number of genomes are sequenced leading to an increase in derived genomic data (RNAseq, ChIPseq). This increasing amount of data has to be stored, analyzed and searched (gene families, SNPs, ...). To face this challenge, the URGI platform (<http://urgi.versailles.inra.fr>) provides tools to store and annotate entirely sequenced genome such as annotation pipelines, databases and user-friendly interfaces to browse and query the data. Bioinformatics resources developed at URGI to provide structural and functional annotations to the scientific community working on fungal genomes are the following:

- Genomic large scale analysis: Transposable element detection and annotation package called REPET [1] with two pipelines: TEdenovo and TEannot. Gene prediction based on *ab initio*, EST and protein similarity-based finding software integrated in EuGene [2]. Functional annotation pipeline of proteins based on (i) pattern matching and motif recognition, (ii) intracellular targeting prediction methods, and (iii) comparative genomics tools with other fungal genomes.
- Genome browser to explore genome annotations (Gbrowse) and synteny relationships (Synteny browser) between related genomes.
- A manual annotation system for gene structural curation (GMOD databases and interfaces Chado/Apollo). Curated data are shared by a consortium on line.
- Genome Report System (GRS) allows queries of structural and functional data stored in a Chado database, including cross references, and Gene Ontology. An editing module (GRS edition) allows manual functional annotation.
- Quick and advanced search are proposed, respectively through GnpIS QuickSearch (<http://urgi.versailles.inra.fr/gnpis>) and BioMart (complex search criteria on Datamart, GMOD Tool). BioMart results could be exported to a Galaxy server for further bioinformatic analysis.

We will present this integrated genome annotation system successfully used for fungal genomes such as *Botrytis cinerea* T4 [3] and *Leptosphaeria maculans* [4] in the frame of their genome sequencing project. Portals for the different species are available at <http://urgi.versailles.inra.fr/index.php/Species>.

[1] Flutre T, *et al.* (2011) *PLoS ONE* 6(1):e16526

[2] Foissac S, *et al.* (2008) *Current Bioinformatics*, 3(2):87-97

[3] Amselem J, *et al.* (2011) *PLoS Genetics* 7(8):e1002230.

[4] Rouxel T, *et al.* (2011) *Nat Communications* 2:202, doi: 10.1038/ncomms1189

**Keywords:** genome annotation, pipelines, databases, interfaces, genes, transposable elements.

**GEMO project: Genetic bases of pathogenicity and host specificity analyzed through comparative and evolutionary genomics in the model fungus *Magnaporthe***

**E. Ortega-Abboud** (1,2), L. Mallet (3), C. Guérin (3), J. Kreplak (4), J. Amselem (4), A. Couloux (5), C. Cruaud (5), H. Chiapello (3), M-H. Lebrun (6), T. Kroj (1), D. Tharreau (2), E. Fournier (1)

(1) INRA, UMR BGPI, TA 54K, 34398 Montpellier;

(2) CIRAD, UMR BGPI, TA 54K, 34398 Montpellier

(3) INRA, UR MIG, 78352 Jouy-en-Josas, France;

(4) INRA, URGI, 78026 Versailles, France;

(5) Genoscope, Centre National de Séquençage, 2 rue Gaston Crémieux, 91 507 Evry, France

(6) INRA, UMR BIOGER, 78850 Thiverval-Grignon, France.

GEMO is a project of comparative fungal genomics focusing on related species and sub-species from the *Magnaporthe grisea/oryzae* species complex. The dataset gathered by the GEMO project encompasses 10 *Magnaporthe* genomes: 9 *M. oryzae* genomes from isolates specifically pathogenic on *Oryza sativa*, *Triticum sp*, *Setaria sp* or *Eleusine sp*, and 1 from a *M. grisea* isolate specifically pathogenic on *Digitaria sp*. In this project, the MIG in collaboration with the URGI-Bioger platform are realizing a comparative analysis of these genomes which consists of automatic annotation of genes, structural comparison of these genomes and detection of positive selection in orthologs across this taxonomic sampling [1]. In addition, a detailed evolutionary and syntenic analysis will be performed on two particular groups of genes encoding putative effectors known to be involved in pathogenicity: small secreted proteins (SSPs) and genes involved in the biosynthesis of secondary metabolites. The first step will be to establish the repertory of genes belonging to these families in the 10 available genomes. Different sources of information will be used, such as a set of lists of secondary metabolism genes already established [1], a list of SSP to be compiled from different sources (transcriptomes, proteomes, effectomes), the automatic annotations of the 10 available genomes, and RNAseq data from *in planta* early infection. We will then address three questions: 1) Are SSP and secondary metabolism genes more subject to birth/death/duplication processes and to horizontal gene transfers, than the rest of the coding genome? 2) Are transposable elements more frequently associated with SSP and secondary metabolism genes than in the rest of the coding genome? 3) Are SSP and secondary metabolism genes more targeted by positive selection than the rest of the coding genome? All this information will allow depicting the evolutionary history of some pathogenicity and host-specificity related genes in *Magnaporthe*.

[1] Collemare 2007. Communication entre les plantes et leurs agents pathogènes : rôle des métabolites secondaires dans la reconnaissance du champignon *Magnaporthe grisea* par le riz. PhD Thesis.

*Keywords:* *Magnaporthe oryzae*, magnaporthe, pathogenicity factors in fungi, host-specific genes, fungal genomics, fungal evolution, fungal positive selection, mobile elements in fungi.

**Posters - Session 4 :**

**Génétique et Evolution des Populations**

***Phytophthora alni* subsp. *uniformis* is an invasive species in Europe**

**J. Aguayo** (1), G. Adams (2), F. Halkett (1), M. Catal (3), C. Husson (1), Z. Nagy (4), P. Frey (1), B. Marçais (1)

(1) INRA, UMR1136 Interactions Arbres/Microorganismes. Champenoux, France

(2) University of Nebraska, Department of Plant Pathology. Lincoln, Nebraska, USA

(3) Akdeniz University, Department of Plant Protection. Antalya, Turkey.

(4) Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences. Budapest. Hungary

Alder decline caused by the *Phytophthora alni* complex is one of the most important diseases in natural ecosystems in Europe in the last 20 years. This emerging disease has been jeopardizing European alder forests, threatening riparian ecosystems. For example, in Eastern France, the disease global prevalence reaches 17% of trees. The emergence of *Phytophthora alni* is linked to an interspecific hybridization event. Nevertheless, the hybrid origin zone and the recurrence of the hybridization remain unknown. Recent studies carried out in our laboratory enabled to better understand the genesis of the interspecific hybrid, *Phytophthora alni* subsp. *alni* (*Paa*), identifying *Phytophthora alni* subsp. *uniformis* (*Pau*) and *Phytophthora alni* subsp. *multiformis* (*Pam*) as the parental species. *Paa* is widespread in Europe, the only continent where it has been isolated. Furthermore, it is the most aggressive within the *P. alni* complex. The parental species, *Pam* and *Pau* are rare and less aggressive. *Pam* has been isolated exclusively in Europe while *Pau* has been isolated in several European countries and recently in North America, precisely in Alaska. A genetic structure study of American and European populations of *Pau* was carried out with 7 microsatellite markers, developed after pyrosequencing of an enriched library. Fifty six *Pau* individuals were genotyped. The results show two genetically differentiated populations ( $F_{st}=0.56$ ) with 3 multilocus groups for the 44 European isolates and 7 multilocus groups for the 12 Alaskan isolates, exhibiting higher genetic diversity for the American population. Results of this study revealed striking differences between the American and European populations of *Pau*. While the American population was quite diverse and had a genetic structure that indicated importance of sexual reproduction, the European population had very low variability and showed signs of clonality. The genetic differentiation between the two populations was high with no evidence of gene flow between them. Our results clearly indicate that the European *Pau* population is alien and derives from the introduction of few individuals that reproduced clonally, while the Alaskan population is probably an indigenous population.

Adams, G. *et al.* 2008. *Phytophthora alni* subsp. *uniformis* found in Alaska beneath thinleaf alders. Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2008-1212-02-BR.

Ioos, R. *et al.* 2006. Genetic characterization of the natural hybrid species *Phytophthora alni* as inferred from nuclear and mitochondrial DNA analyses. Fungal Genetics and Biology, 43: 511-529.

Malausa, T. *et al.* 2010. High-throughput microsatellite isolation through 454 GSFLX Titanium pyrosequencing of enriched DNA libraries. Molecular Ecology Resources, 11: 638-644.

Thoirain, B. *et al.* 2007. Epidemiology of the *Phytophthora*-induced decline of alder in northeastern France. Phytopathology, 97: 99-105

*Mots-clés* : invasive species, interspecific hybridization, microsatellites markers.

**Identifier les gènes impliqués dans la sélection par des agents pathogènes en population naturelle : l'exemple de *Quercus robur* et de l'oïdium du chêne**

**B. Barrès**, P. Garnier-Géré, C. Bodénès, C. Lepoittevin, et M-L. Desprez-Loustau

INRA, UMR1202 BIOGECO, Domaine de Pierroton, Cestas F-33610, France

Le développement d'approches intégratives, afin de mieux appréhender les mécanismes évolutifs des résistances génétiques chez les plantes, pourrait permettre le développement de stratégies efficaces et durables dans la lutte contre les bioagresseurs. Le projet REALTIME se propose d'identifier les effets de la sélection naturelle induite par les bioagresseurs sur la structure et la variation génétique d'une espèce d'arbre modèle (*Quercus robur*). En particulier, nous nous sommes intéressés à l'effet de la pression de sélection d'une maladie foliaire, l'oïdium du chêne. Cette maladie est causée par un complexe d'espèce (essentiellement les espèces *Erysiphe alphitoides* et *Erysiphe quercicola*). Pour étudier l'effet de ces interactions, 2876 individus provenant de 15 familles de descendants et d'un croisement contrôlé de chênes sessiles ont été plantés dans un dispositif qui reproduit les fortes densités de semis que l'on peut retrouver dans une régénération naturelle. Trois pressions de sélection différentes ont été appliquées sur ces populations : infection naturelle, infection limitée par un traitement phytosanitaire et infection renforcé par inoculation artificielle. Les individus ont été phénotypés pour leur sensibilité à l'oïdium du chêne durant 3 années. En parallèle, 1456 de ces individus ont été génotypés pour 1536 marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Deux stratégies ont été suivies afin de rechercher les gènes impliqués dans la résistance à la maladie. La cartographie des QTLs (Quantitative Trait Loci) de résistance à l'oïdium a été réalisée grâce à l'étude du croisement contrôlé tandis que l'analyse des 15 familles de descendants par une approche de génétique d'association a permis d'identifier des SNPs potentiellement impliqués dans la défense du chêne.

*Mots clés* : génétique d'association, SNP, QTL, population naturelle



## Timing pathogen adaptation to multi-resistance

**R. Bourget** (1,2), L. Chaumont (1), N. Sapoukhina (2)

(1) LAREMA, Département de Mathématiques

Université d'Angers, UFR Sciences, 2 Boulevard Lavoisier - 49045, Angers, France

(2) INRA/ACO/UA UMR077 PaVé, IFR149, BP 60057, F-49071 Beaucouzé, France

In many biological contexts, humans try to control harmful populations by introducing total resistance into their habitat. However, this strategy is rarely durable because of swift pathogen adaptation to a new hostile environment. Multi-resistance is thought to be a way to delay pathogen adaptation. To understand the population adaptation to multi-resistance, we were interested in the impact of the structure of multi-resistant environment on the waiting time before emergence of a multi-virulent mutant. We formulated and analyzed a stochastic population model based on competition processes with mutation, migration and recombination. We included a fitness cost for mutants overcoming resistance. To estimate the emergence time, we performed numerical simulations in which we vary pathogens life history traits and the environment structure. The numerical simulation showed the strong dependence of the emergence time on the environment structure. In the case of diversified environment including mono-resistant and susceptible areas, emergence time is a U-shape function of the fraction of resistant area. The emergence time was longer for low and high resistant area fractions, because of induced low migration and mutation probabilities. For multi-resistant environment, emergence time increases with the increase of number of resistances and with the decrease of the fraction of transition environments. The results of the model provide insight into our understanding the interplay between used disease control strategy and the pathogen evolution rate to overcome the resistance. The model can be used for designing control strategies preventing rapid adaptation of harmful populations. The model can also be adapted to study pathogen adaptation to partial resistance.

*Keywords:* adaptation, resistance, multi-virulence, birth-and-death processes, stochastic model

## Stabiliser la maîtrise des épidémies sur les cultures en s'appuyant sur les principes évolutifs : un cadre conceptuel interdisciplinaire

L. Bousset, A.-M. Chèvre

UMR1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, 35653 Le Rheu, France.

Dans les agro-écosystèmes, le rendement des cultures implantées à des fins de production est réduit par les épidémies dont le développement dépend de l'interaction, dans le temps et l'espace, entre les plantes hôtes, les agents pathogènes, l'environnement et les actions humaines. L'exploitation de la résistance génétique des plantes aux maladies permettrait de réduire la dépendance de l'agriculture aux pesticides, mais en l'absence de stratégies de gestion, la résistance perd généralement son efficacité en quelques années à cause de l'augmentation en fréquence d'individus adaptés dans les populations pathogènes. Cette adaptation a été pensée dans le cadre conceptuel des populations. Pour proposer des stratégies aux échelles plus larges, il est nécessaire d'articuler les concepts écologiques et évolutifs à l'échelle du paysage comme cela est réalisé pour les écosystèmes naturels. Ceci suppose de réaliser un travail d'ébauche interdisciplinaire (Bousset 2011), processus graduel de construction d'une représentation mentale à l'interface de disciplines. L'objectif de notre travail d'ébauche interdisciplinaire est d'ajuster le concept de mosaïque géographique de la coévolution entre hôtes et agents pathogènes aux agro-écosystèmes pour permettre de stabiliser la maîtrise des épidémies sur les cultures par les actions humaines (Bousset et Chèvre, 2011). Dans les agro-écosystèmes, les actions humaines d'une part exacerbent les homogénéités alternant avec des discontinuités nettes sur les échelles de temps et d'espace et d'autre part ajoutent des niveaux d'interaction. La dynamique de l'adaptation à l'échelle du paysage dépend à la fois de l'épidémie annuelle, des flux entre types d'hôtes et des actions humaines. La fluctuation conjointe de la taille et de la composition des dèmes l'agro-métapopulation pathogène peut être formalisée en lien avec les actions humaines – directes par action sur l'agro-métapopulation pathogène ou alors indirectes par action sur l'agro-métapopulation hôte – étant donné l'environnement physique, biologique et social. L'articulation des concepts disciplinaires ouvre la perspective de stabiliser la maîtrise des maladies en raisonnant la gestion pour appliquer sélectivement des coûts évolutifs afin de maintenir l'agro-métapopulation pathogène localement non adaptée à l'agro-métapopulation hôte.

Bousset L, 2011. Interdisciplinarité : mise en commun des idées, communication et travail d'ébauche. In: Bousset L, Point de vue sur l'articulation de concepts disciplinaires : application à la gestion de la maîtrise des épidémies sur les cultures dans les agro-écosystèmes. INRA, Document de travail.

Bousset L, Chèvre AM, 2011. Stabiliser la maîtrise des épidémies sur les cultures en s'appuyant sur les principes évolutifs : ajuster le concept de métapopulation aux spécificités des agro-écosystèmes. In: Bousset L, Point de vue sur l'articulation de concepts disciplinaires : application à la gestion de la maîtrise des épidémies sur les cultures dans les agro-écosystèmes. INRA, Document de travail.

*Mots-clés* : dynamique des populations, écologie évolutive, métapopulations, résistance des plantes, adaptation, protection des cultures.

## Comparaison de méthodes de suivi de la sensibilité de *Botrytis cinerea* aux fongicides Carboxamides

J. Confais, D.Martinho, A-S. Walker

INRA, UR1290 BIOGER-CPP, F-78850 Thiverval-Grignon, France

La lutte chimique est à ce jour la seule méthode efficace pour réduire l'impact de *Botrytis cinerea* sur la vigne. Une nouvelle famille de fongicides, les inhibiteurs de la succinate-deshydrogénase (SDHIs), est utilisée depuis 2005 au vignoble. En France sur vigne, le seul SDHI autorisé est le boscalid appartenant à la famille des carboxamides. Trois ans après son introduction dans les vignobles français, des isolats résistants aux SDHIs ont été détectés. Le suivi de la résistance aux SDHIs s'effectue en routine au laboratoire par observation microscopique de la germination des spores *in vitro*. Les études sur le niveau de résistance et sur les spectres de résistance croisée aux différentes classes de SDHIs ont permis de classer les isolats résistants en 6 phénotypes différents, nommés de CarR1 à CarR6. Dans un objectif de discrimination haut débit des catégories CarR, un test phénotypique en micro-plaques a été adapté. Les souches de références utilisées pour valider cette nouvelle méthode correspondent à des lignées isogéniques avec insertion des gènes de résistance conférant les différents phénotypes résistants CarR. Les résultats obtenus peuvent être corrélés avec ceux établis par le test *in vitro* de germination de spores. Ainsi une substitution au profit de cette méthode, plus rapide, serait envisageable.

(1) G. Stammler and J. Speakman 2006. Microtiter method to test the sensitivity of *Botrytis* to Boscalid. J. Phytopathology 154, 508-510.

(2) P. Leroux, M. Gredt, M. Leroch, and A.S. Walker 2010. Exploring mechanisms of resistance to respiratory inhibitors in field strains of *Botrytis cinerea*, the causal agent of gray mold. Appl. Environ. Microbiol. 76, 6615-6630.

*Mots-clés* : Carboxamide (SDHI), *Botrytis cinerea*, résistance aux fongicides

## Histoire évolutive de la virulence *Vf* en Europe chez *Venturia inaequalis*, agent de la tavelure du pommier

M. De Gracia (1), C. Lemaire (2), B. Le Cam (1)

(1) INRA Angers, IRHS

(2) Université Angers, IRHS

En agriculture, les stratégies de lutte génétique reposent sur l'introggression de gènes de résistance, le plus souvent majeurs, puisés dans les ressources génétiques sauvages. La durabilité des gènes majeurs introgressés, sont largement remise en question car elle repose sur des mécanismes d'interaction hôte-pathogène de type gène-pour-gène. La théorie et la pratique montrent en effet que les mutations et délétions dans le gène d'avirulence permettant le contournement du gène de résistance correspondant chez l'hôte sont fréquentes. Cependant les hypothèses selon lesquelles le génotype virulent préexisterait chez les populations sauvages du pathogène est bien souvent négligée. La prise en compte de telles populations est cependant essentielle pour prédire les risques futurs de contournement. Notre étude retrace l'histoire évolutive de la population *virulente-Vf* de *Venturia inaequalis*, l'agent pathogène de la tavelure, à l'échelle Européenne. Notre objectif est (i) de déterminer le scénario le plus probable de l'émergence de la population *virulente-Vf* en Europe et (ii) d'essayer de dater ce(s) événement(s) d'émergence. L'ensemble des connaissances sur son histoire et son émergence permettra d'anticiper sa dynamique de propagation future. A l'aide de marqueurs moléculaires de type microsatellites, nous avons analysé à la fois des populations *virulentes-Vf* et des populations issues de variétés dépourvues du gène *Vf* (populations *avirulentes-Vf*) dans un cadre de génétique des populations. Nous mettons en évidence, à l'échelle européenne, une population *virulente-Vf* fortement différenciée des populations *avirulentes-Vf* natives présentes en vergers. L'analyse des scénarios démographiques réalisées grâce aux méthodes ABC (Approximate Bayesian Computation) nous montre que les différentes épidémies observées sur les variétés *Vf* en Europe sont dues à une seule et même population provenant de l'hôte *Malus floribunda*, arbuste d'ornement à partir duquel le gène de résistance *Vf* a été introgressé. Cette population fortement différenciée génétiquement aurait divergé des populations connues sur pommier domestique il y a plus de 1000 ans. La perte d'efficacité du gène de résistance *Vf* à l'échelle européenne serait donc due à l'émergence d'une population issue du compartiment sauvage dont l'épidémie a été favorisée par l'introduction en verger de variétés portant le gène de résistance *Vf*. Notre étude permet d'introduire la notion nouvelle que constitue le risque d'émergence de variants pathogènes issus du compartiment sauvage par l'introggression de gènes de résistance dans les agrosystèmes.

*Mots-clés* : émergence, virulence, microsatellite, résistance génétique, *Venturia inaequalis*

## Quelle réalité derrière le mythe ? Dynamique spatio-temporelle de la fructification et régime de reproduction de l'Amanite des Césars (*A. caesarea*) dans les forêts subnaturelles de Corse

M. P. Dubois, V. Salomon, P. Jarne, M.-A. Selosse, F. Richard

Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, UMR 5175, CNRS - Univ Montpellier II, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier, France

Servie depuis l'antiquité à la table des souverains, aujourd'hui encore entourée du plus grand secret quant à l'emplacement des rares populations connues, l'Amanite des Césars ou oronge (*A. caesarea*) est sans conteste l'espèce fongique ectomycorhizienne emblématique des forêts méditerranéennes. En Corse, cette espèce rare partout ailleurs forme des populations exceptionnellement productives, notamment dans les vieilles forêts de chêne vert (*Quercus ilex*), dont la dynamique interne est particulièrement favorable à sa fructification. Nous présentons ici le résultat de 11 années consécutives de suivi diachronique, cartographie systématique et typage moléculaire exhaustif des fructifications d' *A. caesarea* produites au sein d'un transect permanent établi en 1999 dans la réserve Man and Biosphere du Fango (Haute Corse). A l'aide de l'analyse du polymorphisme d'un jeu de marqueurs microsatellites obtenu par pyroséquençage, la distribution spatio-temporelle des individus génétiques ainsi que la structure populationnelle sous-jacente aux places à oronges, micro-stations de quelques mètres carrés sièges de fructification régulières et pérennes de l'espèce, ont été étudiées sur la durée de l'étude. Le part climatique du déterminisme de la poussée, mais aussi les liens entre la fructification d' *A. caesarea* d'une part, et la structure et la dynamique interne de ces forêts d'autre part, ont également été explorés. Les premiers résultats montrent que la fructification de l'amanite des Césars est (i) conditionnée par deux épisodes pluvieux de part et d'autre du mois d'août, et (ii) sensible aux couverts forestiers de densité intermédiaire, tels que rencontrés dans les savanes arborées. A l'échelle locales, les populations d' *A. caesarea* sont structurées par une intense reproduction sexuée, et constituées d'individus pérennes, dont la longévité peut atteindre la décennie, capables d'éclipses régulières de fructification lors de séquences climatiques défavorables. Les places à oronge quant à elles sont le siège de fructifications asynchrones de la part d'individus génétiques différents, coexistant en une mosaïque spatiale complexe, sans doute en lien avec des micro-conditions particulièrement favorables. L'ensemble de ces résultats nous éclaire sur la biologie de cette espèce paradoxalement mal connue, et sur l'écologie d'un symbionte fongique typiquement associé au régime des perturbations frappant son hôte, qu'elles soient d'origine anthropique (coupes) ou naturelle (trouées par chablis).

*Mots clés* : dynamiques des populations, marqueurs microsatellites, pyroséquençage, suivi diachronique, champignons ectomycorhiziens, forêts Méditerranéennes.

## Premiers éléments pour reconstruire l'expansion du chancre du châtaignier en France à partir des données moléculaires

C. Dutech (1), O. Fabreguettes (1), X. Capedevielle (1), M. Martin (1), C. Robin (1), J-P. Rossi (2)

(1) INRA, UMR1202 BIOGECO, Domaine de Pierroton, F-33612 Cestas, France

(2) INRA, UMR UMR1062 CBGP, Campus International de Baillarguet CS 30016, F-34988 Montferrier-sur-Lez cedex, France

*Cryphonectria parasitica*, l'agent causal du chancre du châtaignier a été introduit en Europe au cours du 20<sup>ème</sup> siècle (première description en 1938 en Italie), et cause des dégâts importants aux vergers et parcelles forestières de châtaigniers. Les premières analyses génétiques confirment que plusieurs introductions ont eu lieu en France dont au moins deux se situeraient dans les Pyrénées et une autre proviendrait d'Italie. Ces introductions géographiquement disjointes et une expansion relativement lente conduisent à une forte structure génétique spatiale en France. Cependant, la fragmentation de la population hôte pourrait également contribuer à cette structure génétique. En utilisant différentes approches de génétique du paysage, nous avons testé différents scénarios de dispersion de cet agent pathogène afin de reconstruire sa dynamique d'expansion dans son aire d'introduction européenne.

*Mots-clés* : Ascomycète, barrière, champignon pathogène, colonisation, flux de gène, invasion biologique

**Asian populations of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* as a centre of diversity with high sex ability**

S. Ali (1), J. Enjalbert (2), **M. Leconte** (1), A. Gautier (1), M. S. Hovmøller (3), C. de Vallavieille-Pope (1)

(1) UR 1290 BIOGER-CPP, INRA, 78850 Thiverval-Grignon, France

(2) UMR 320 Génétique Végétale, INRA, Ferme du Moulon, 91190 Gif sur Yvette, France

(3) University of Aarhus, Forsøgsvej 1, DK-4200 Slagelse, Denmark

The worldwide population analysis is crucial for understanding the evolutionary potential and identifying centre of diversity for long distance migrating pathogens. *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* (PST) is one of these pathogens with worldwide distribution but unknown centre of diversity and origin. Early population analysis of PST has shown clonal population structure in the USA, Australia and Europe. Our recent work showed a high genotypic diversity in Pakistan (Bahri et al. 2011) and recombinant populations in China (Mboup et al. 2009), suggesting the existence of diverse population at least in some Asian populations. To explore the worldwide population structure of PST a set of 385 isolates representative of worldwide geographical origins, were genotyped with 20 SSR markers. These isolates were clustered into 6 distinct clusters reflecting their geographical origins. Recombination signature was present in Asiatic populations (China, Nepal and Pakistan) while absent in Australian-European, African, and American populations, confirming the East-West diversity gradient. To infer on the possible origin of sexual recombination for this gradient of diversity, we measured the telial production, a sex-specific structures that are obligatory for sexual cycle, as a proxy for this sex-ability. Telial phenotyping was made for 56 isolates selected as representative of the above mentioned geographical regions. Indeed, the telial production was high in populations with recombination signature (Pakistan, Nepal and China) while low in clonal populations (Ali et al., 2010). The cline observed in telial production was in accordance with the observed gradient of genotypic diversity/recombination, supporting the hypothesis of occurrence of sexuality in PST populations.

Ali S., Leconte M., Walker A.S., Enjalbert J., de Vallavieille-Pope C., 2010. Reduction in the sex aptitude of worldwide clonal populations of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*. *Fungal Genetics and Biology*, 47, 828-838.

Bahri B., Shah S.J.A., Leconte M., Enjalbert J., de Vallavieille-Pope C., 2011. Genetic diversity of the wheat yellow rust population in Pakistan and its relationship with host resistance, *Plant Pathology* 60, 649-660.

Mboup M., Leconte M., Gautier A., Wan A., Chen W., de Vallavieille-Pope C., Enjalbert J., 2009. Evidence of genetic recombination in wheat yellow rust populations of a Chinese overwintering area. *Fungal Genetics and Biology*, 46, 299-307.

## Spécialisation plante-hôte de *P. viticola*, agent causal du mildiou de la vigne

M. Rouxel (1), P. Mestre (2), F. Delmotte (1)

(1) UMR 1065 Santé et Agro-Ecologie du Vignoble, INRA Bordeaux, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71, Av Edouard Bourlaux, 33883 Villenave d'Ornon, France

(2) UMR 1131 Santé de la Vigne et Qualité du Vin, INRA / Université de Strasbourg, 28, rue de Herrlisheim, BP 507, 68021 Colmar, France

*Plasmopara viticola*, l'agent causal du mildiou de la vigne, est un parasite obligatoire originaire d'Amérique du Nord. Cet oomycète attaque de nombreuses espèces cultivées et sauvages du genre *Vitaceae*. La variabilité génétique de populations de *P. viticola* dans sa région d'origine indique l'existence d'au moins quatre espèces cryptiques de mildiou de la vigne qui semblent être associées à différentes plantes hôtes. Nous avons étudié la spécialisation plante-hôte de *P. viticola* par le biais d'inoculations croisées. Nous avons testés la capacité d'isolats de mildiou collectés sur différentes plantes hôtes (hôtes sources) à infecter l'ensemble des hôtes (hôtes inoculés) sur lesquels ces isolats avaient été prélevés. Vingt isolats prélevés sur six *Vitis* spp. (*Parthenocissus quinquefolia*, *Vitis riparia*, Chancellor, *V. aestivalis*, *V. labrusca*, *V. vinifera*) ont été collectés et inoculés sur six *Vitis* spp.. Deux composantes de l'interaction entre les isolats et les plantes hôtes ont été mesurées : la pathogénicité et l'agressivité. La variation de la taille des sporanges a également été mesurée en fonction de la plante hôte d'origine et de la plante inoculée. Dans le même temps, la région ITS1 a été amplifiée et séquencée pour chaque isolat afin de connaître les espèces de mildiou de la vigne utilisées pour les inoculations croisées. Les résultats indiquent que deux espèces de mildiou (A et D) sont spécialisées sur leur plante hôte, c'est-à-dire qu'elle ne peut se développer que sur leur plante d'origine (respectivement *V. riparia* et *P. quinquefolia*). L'espèce A peut également se développer sur une espèce cultivée apparentée à *V. riparia* (Chancellor). Les espèces de mildiou B et C sont capables d'infecter toutes les plantes hôtes utilisées dans ces inoculations croisées. Cependant, le niveau d'agressivité est beaucoup plus élevé quand ils sont inoculés sur leur propre plante hôte. De plus, les sporanges de l'espèce B sont plus petits que les sporanges des autres espèces quelque soit la plante inoculée, indiquant des adaptations morphologiques entre les espèces de *P. viticola*. Les données morphologiques et phénotypiques obtenues par cette étude confortent les données génotypiques obtenues récemment et apportent les preuves d'une spécialisation plante-hôte au sein des populations de mildiou de la vigne.

*Mots-clés* : espèces cryptiques, inoculations croisées, spéciation, *Vitaceae*



## Identification d'un gène encodant une cyclooxygénase chez les agents de la graphiose de l'orme et étude de son implication dans le dimorphisme levure-mycélium

E. Sayuri Naruzawa, L. Bernier

Centre d'étude de la forêt, Université Laval, 1030 avenue de la Médecine, Québec (Québec) G1V 0A6, Canada

Les populations d'orme d'Europe et d'Amérique du Nord ont été dévastées par la graphiose de l'orme causée par les champignons ascomycètes *Ophiostoma ulmi* et *O. novo-ulmi*. Ces pathogènes affichent un dimorphisme levure-mycélium. Des études antérieures suggèrent que la transition levure-mycélium chez *O. ulmi* est affectée par des inhibiteurs des lipoxygénases mais non par des inhibiteurs des cyclooxygénases (Jensen et al. 1992). Au contraire, nos résultats suggèrent que la transition levure-mycélium est affectée par des inhibiteurs de ces deux types d'enzymes. Suite au séquençage du génome de la souche agressive *Ophiostoma novo-ulmi* subsp. *novo-ulmi* H327, nous pouvons vérifier si les agents de la graphiose possèdent des homologues de gènes encodant des lipoxygénases et des cyclooxygénases. Nous avons trouvé un homologue du gène encodant une cyclooxygénase chez *Aspergillus* parmi les données d'annotation de H327. Le BLAT (Blast [Basic Local Alignment Search Tool] - Like Alignment Tool) avec plusieurs séquences de dioxygénases, linoleate diol synthases et prostaglandine H synthases a confirmé la similarité à la portion qui correspond au gène en question. Par contre, le BLAT avec les séquences des lipoxygénases utilisées n'a résulté aucune similarité avec le génome de H327. Afin de déterminer la structure de la protéine hypothétique de ce gène, nous avons recherché des motifs de la protéine dans les banques PFAM et NCBI, ainsi que des voies métaboliques parmi celles disponibles dans la banque KEGG. Les résultats montrent que le produit de ce gène possède des motifs peroxydase et P450, tout comme les ppo (psi producing oxygenase) d'*Aspergillus*, et qu'il participe probablement à la voie métabolique de l'acide arachidonique. L'arbre phylogénétique suggère que ce gène est homologue à ppoC d'*Aspergillus*. Des amplifications d'une portion de ce gène spécifique pour les ppo ont montré qu'elle est présente chez d'autres agents de la graphiose. Grâce à ces travaux et à des études subséquentes, nous espérons améliorer notre compréhension des mécanismes qui promeuvent le dimorphisme et contribuer ainsi à l'avancement des connaissances sur l'interaction orme-agent de la graphiose.

Jensen, E. C., C. Ogg & K. W. Nickerson (1992) Lipoxigenase Inhibitors Shift the Yeast/Mycelium Dimorphism in *Ceratocystis ulmi*. *Applied And Environmental Microbiology*, 58, 2505-2508.

*Mots-clés* : ophiostomatoides, dimorphisme, dioxygénases, oxylipines, maladie hollandaise de l'orme

**Posters - Session 5 :**

**Epidémiologie**

**Surprising effect of nitrogen nutrition regimes on the development of *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* on lettuce plants****M.A. Abro** (1), F. Lecompte (2), M. Duffaud (1) and P.C. Nicot (1)

(1) INRA, UR407 Pathologie végétale, Domaine Saint Maurice, BP94, F84143 Montfavet cedex, France.

(2) INRA, UR 1115 Plantes et Systems de Cultures horticoles, Domaine Saint Paul, Site Agroparc, F-84194, Avignon cedex, France

Although nitrogen (N) fertilisation is known to affect disease development in a variety of host-parasite systems, information is lacking on lettuce drop and grey mould, caused respectively by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. Studies were carried out to investigate the effect of five regimes of nitrogen nutrition on the susceptibility of lettuce plants to six strains of *B. cinerea* known to differ in their aggressiveness on tomato and one strain of *Sclerotinia sclerotiorum*. For this, one-month old plants were subjected to differential fertigation regimes with nitrogen inputs varying from 0.5 to 20 mMol. L<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Plants were grown under those regimes for 3-4 weeks prior to inoculation. Three independent tests were conducted over a three-year period. The fertigation regimes resulted in contrasted development of the lettuce plants and they affected significantly the mineral composition and sugar (fructose, glucose and sucrose) content of the plant tissue, analyzed just before inoculation. Total fresh and dry weights, N, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, P and K contents increased with increasing N concentrations. Leaf area also increased with increasing N concentration up to a threshold level (10 mMol. L<sup>-1</sup>) above which there was no further increase. In contrast, Ca, Mg and C contents were decreased at higher N levels and the C content did not vary significantly. Contrarily to results obtained in previous studies with tomato, (1) no marked difference in aggressiveness was observed among the six strains, and (2) high N nutrition increased (rather than decreased) the susceptibility of lettuce plants against *B. cinerea*. For all six strains tested, the overall disease severity (assessed by the surface of necrotic lesions), increased with increasing N. The high N fertilization also increased the susceptibility of lettuce to *S. sclerotiorum*. Among all possible factors tested, total N, K and sucrose contents were positively correlated to the surface of the leaf lesions caused by *B. cinerea*, K and sucrose were positively correlated with those caused by *S. sclerotiorum*. Results of this study indicate that increasing NO<sub>3</sub><sup>-</sup> in the nutrient solution positively affected vegetative growth of lettuce plants but it also increased the susceptibility of plants to *B. cinerea* and *S. sclerotiorum* infection in lettuce.

*Keywords:* Grey mould, susceptibility, host resistance, N fertilization, *Lactuca sativa*

**Diversité de la sensibilité de *Botrytis cinerea* à des stimulateurs des défenses naturelles des plantes.**

**M. Bardin**, M. Comby, R. Lenaerts, C. Troulet, P. C. Nicot

INRA, UR407 Pathologie Végétale, BP 94, 84140 Montfavet, France

Le développement d'inducteurs des défenses naturelles des plantes pour augmenter la résistance des hôtes représente une alternative intéressante aux fongicides pour la protection des cultures contre les agents phytopathogènes. Divers agents biotiques et abiotiques sont capables d'activer les défenses naturelles chez différentes espèces végétales. Dans cette étude nous avons évalué l'efficacité contre *Botrytis cinerea* sur la tomate et la laitue, de quatorze produits de protection biologique (micro-organismes, extraits végétaux et molécules organiques) présumés induire les mécanismes de défense des plantes.

Deux jours après l'application du produit, des feuilles de tomate et de laitue ont été inoculées avec *B. cinerea* et incubées dans des conditions propices au développement de la maladie. Les lésions résultantes ont été photographiées deux jours après l'inoculation et leur surface a été évaluée à l'aide d'un logiciel d'analyse d'image. Sur les 14 produits testés, Serenade Max® (*Bacillus subtilis* QST713) s'est avéré avoir une efficacité significative contre *B. cinerea* sur les deux plantes.

Afin d'évaluer la présence éventuelle d'isolats de *B. cinerea* ayant une sensibilité moindre à Serenade Max dans les populations naturelles d'isolats, l'efficacité protectrice de ce produit a été évaluée contre 20 souches de provenance géographique, de plantes hôtes d'origine et, d'agressivité sur tomate et laitue différentes. À cette fin, des feuilles de tomate et de laitue ont été traitées avec deux concentrations de Serenade Max (0,2% et 0,8%), deux jours avant inoculation avec *B. cinerea*. Les résultats obtenus indiquent que l'efficacité du produit est fortement influencée par l'isolat de *B. cinerea* testé, avec des niveaux de protection allant de 40% à 86% sur feuilles de tomate, et de 0 à 80% sur feuilles de laitue selon l'isolat testé. Aucune corrélation n'a été observée entre le niveau d'agressivité des souches *B. cinerea* et la protection fournie par l'agent de protection biologique. Les implications possibles de ces résultats seront discutées.

*Mots-clés* : protection biologique, SDN, efficacité, diversité, durabilité, agressivité

**Sources potentielles d'inoculum de *Botrytis cinerea* en dehors du contexte agricole *sensu stricto***

M. Bardin, C. Monteil, C. Leyronas, C. Troulet, M. Duffaud, C. Morris

INRA, UR407, Pathologie Végétale, 84140 Montfavet, France

Historiquement, l'étude des agents pathogènes des plantes a été presque exclusivement centrée sur leur interaction avec les plantes. Or, les systèmes agricoles sont généralement des systèmes ouverts, et la plupart des agents phytopathogènes (à l'exception des biotrophes obligatoires) sont susceptibles de survivre et de se multiplier sur d'autres substrats que les plantes cultivées. De plus, la période pendant laquelle un agent pathogène provoque une maladie sur une plante ne représente vraisemblablement qu'une petite partie de son histoire de vie complète. L'origine de ces travaux repose sur l'hypothèse que la structure et la dynamique des populations de certains agents phytopathogènes sont déterminés en grande partie dans des contextes non agricoles en dehors de leur interaction directe avec les plantes (Morris et al., 2009). Cette hypothèse est corroborée par le fait que chez beaucoup d'agents pathogènes (bactéries ou champignons), la persistance dans l'environnement de souches peu agressives, voire non pathogènes, sur les plantes a été décrite. L'avantage écologique et les conditions qui favorisent la persistance de ces souches ne sont généralement pas connus. Du fait du caractère très polyphage de *Botrytis cinerea* et de sa capacité de développement saprophyte, la question de sources potentielles d'inoculum en dehors du contexte agricole *sensu stricto* se pose. Une campagne d'échantillonnage réalisée entre 2005 et 2010 a ainsi permis de détecter le champignon dans des substrats aussi divers que des précipitations, des eaux douces, de la neige, de la litière, des plantes sauvages asymptomatiques, des déchets végétaux urbains ou même des plumes d'oiseaux. Quatre vingt deux souches de *B. cinerea* provenant de ces écosystèmes ont ainsi été mises en collection. Ces souches ont été caractérisées phénotypiquement pour leur croissance mycélienne et leur sporulation *in vitro*, et pour leur pouvoir pathogène (agressivité sur plantes de tomates et sur pommes). Une analyse de la structure génétique des populations associée aux différents habitats identifiés pour cet agent pathogène est en cours. A l'aide de marqueurs microsatellites, des souches provenant d'habitats non agricoles seront comparées avec des souches prélevées sur plantes. La proximité génétique entre ces souches sera évaluée à l'aide d'indices standards de génétique des populations. L'impact des conditions rencontrées en dehors du contexte agricole *sensu stricto* sur l'émergence et la sélection potentielle d'isolats de *B. cinerea* sera discuté.

Morris CE, Bardin M, Kinkel LL, Moury B, Nicot PC, Sands DE, 2009. Expanding the paradigms of plant pathogen life history and evolution of parasitic fitness beyond agricultural boundaries. *PLoS Pathogens* 5: e1000693.

*Mots-clés* : écologie microbienne, diversité, sélection, fitness, agressivité

## Maîtriser les épidémies cycliques sur les cultures des agro-écosystèmes : un cadre conceptuel interdisciplinaire

L. Bousset, A.-M. Chèvre

UMR1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, 35653 Le Rheu, France.

Dans les agro-écosystèmes, les populations de plantes sont organisées en cultures, cultivées avec un objectif de production. Les épidémies réduisent le rendement des cultures. Les méthodes de lutte, actuellement centrées sur la parcelle, sont remises en cause. Il est donc indispensable d'explicitier l'écologie des agents pathogènes dans les agro-écosystèmes. Parce que le développement des épidémies dépend de l'interaction dans l'espace et dans le temps entre les plantes hôtes, les agents pathogènes, l'environnement et les actions humaines, il est nécessaire d'articuler les contributions des disciplines scientifiques à la lumière des connaissances épidémiologiques. A l'échelle de la parcelle, l'épidémiologie a réussi à faire percoler les savoirs entre les travaux théoriques, les études empiriques et les recommandations aux acteurs pour la maîtrise des épidémies. La remise en question de la lutte contre les épidémies rend urgent de réussir également à l'échelle du paysage ce qui implique d'explicitier le fonctionnement de l'écosystème. L'objectif de notre travail d'ébauche interdisciplinaire (Bousset 2011) est de proposer une conceptualisation des épidémies cycliques d'agent pathogènes des cultures. Dans les agro-écosystèmes, les actions humaines exacerbent les homogénéités alternant avec des discontinuités nettes sur les échelles de temps et d'espace. Pour en tenir compte, nous formalisons la dynamique des épidémies cycliques en résumant les processus affectant la taille ou la structure des populations au sein de trois phases : l'épidémie sur la parcelle, la production d'inoculum sur la parcelle, et la transmission d'inoculum entre parcelles (Bousset et Chèvre, 2011). Ceci permet de décomposer la gestion – d'une part à l'échelle de la parcelle et d'autre part à l'échelle du paysage – en objectifs à atteindre correspondant aux composants de la dynamique pluriannuelle des épidémies à maîtriser. Pour chaque objectif à atteindre, la mise en réseau des concepts en reliant chacun à la dynamique des épidémies permet de combiner les tactiques de lutte issues de différentes disciplines scientifiques. Lorsqu'un agro-écosystème est confronté à un agent pathogène, l'articulation des concepts disciplinaires ouvre la perspective d'optimiser la maîtrise des épidémies par l'identification des contributions de chacun. Enfin, nous proposons que les épidémies cycliques puissent être gérées en recherchant de manière décentralisée une solution locale.

Bousset L, 2011. Interdisciplinarité : mise en commun des idées, communication et travail d'ébauche. In: Bousset L, Point de vue sur l'articulation de concepts disciplinaires : application à la gestion de la maîtrise des épidémies sur les cultures dans les agro-écosystèmes. INRA, Document de travail.

Bousset L, Chèvre AM, 2011. Maîtriser les épidémies cycliques sur les cultures des agro-écosystèmes : articuler toutes les dimensions dans la formalisation mais rechercher une solution locale. In: Bousset L, Point de vue sur l'articulation de concepts disciplinaires : application à la gestion de la maîtrise des épidémies sur les cultures dans les agro-écosystèmes. INRA, Document de travail.

*Mots-clés* : Epidémiologie, dynamique des populations, résistance des plantes, protection des cultures, stratégies.

## Une méthode simple et rapide mais précise pour la quantification de la sévérité de maladie : application aux macules de phoma du colza

L. Bousset, S. Jumel, H. Picault, C. Domin, A. Ribulé, R. Delourme

UMR1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, 35653 Le Rheu, France.

L'efficacité de la maîtrise des épidémies de phoma dans les agro-écosystèmes pourrait être améliorée ou accrue en limitant le transfert d'inoculum entre les résidus de culture d'une saison (substrat de la survie et de la production d'inoculum du champignon) et les parcelles implantées la saison suivante. Ceci suppose d'étudier la dispersion des ascospores à l'échelle du paysage. Deux méthodes existent pour l'étude de la dispersion de spores : piéger les spores, ou caractériser les gradients de symptômes résultants. Les pièges à spores et l'exposition de plantes pièges sont appropriés à l'échelle d'une parcelle, mais leur coût et la quantité de travail restreignent leur extension à des échelles plus larges. En conséquence, les études publiées se limitent généralement à la caractérisation fine d'un unique événement de dispersion, alors que la mise au point de stratégies de lutte requiert non seulement l'espérance de la dispersion, mais aussi la variabilité des réalisations. La caractérisation des gradients de symptômes implique la quantification en de nombreux points, deux options sont possibles. La première option est de dénombrer les lésions sur un échantillon de plantes, ce qui est précis mais coûteux en temps, surtout quand la taille de l'échantillon doit être accrue en cas d'incidence faible. La seconde option est d'attribuer une note globale "à œil d'expert", ce qui est rapide mais trop imprécis pour une hiérarchisation quantitative de nombreuses observations. Notre objectif était de développer une méthode rapide et suffisamment précise pour détecter les parcelles dans lesquelles il était pertinent d'investir dans la réalisation des notations de symptômes par les méthodes habituelles. Durant les automnes 2006 à 2010, dans des parcelles d'agriculteurs et sur des placettes expérimentales, nous avons comparé la notation standard et le dénombrement des macules (lésions foliaires dues au phoma) pendant une minute sur une surface d'un mètre carré. Nous avons pu montrer que notre estimateur donnait des résultats reproductibles et corrélés au nombre de lésions réellement présentes. Sur des placettes expérimentales présentant des sévérités de maladie contrastées, la hiérarchisation des niveaux de maladie par des observateurs indépendants était stable. Nous discuterons les conditions d'applicabilité de la méthode, illustrerons son utilisation en parcelles agricoles et présenterons les perspectives d'utilisation en création variétale et en épidémiologie.

*Mots-clés : Leptosphaeria maculans, épidémiologie quantitative, dispersion de spores, Brassica napus*

## Mise au point de méthodes de quantification microscopique et moléculaire des inoculums conidiens et ascospores de la cercosporiose jaune des bananiers

Y. Chilin Charles, H. Bardou, M. Montauban, C. Abadie

CIRAD, UMR BGPI, Capesterre Belle Eau, Guadeloupe

Les cercosporioses du bananier sont considérées comme les maladies foliaires majeures de la culture bananière. L'agent responsable de la cercosporiose jaune présentes en Guadeloupe est un champignon ascomycète et *Mycosphaerella musicola*. Des études récentes ont précisé les distances de dispersion des deux types de spores produites par *Mycosphaerella fijiensis*, un champignon apparenté responsable de la cercosporiose noire présente dans la plupart des pays producteurs de bananes. Cependant la quantification des inoculums conidiens et ascospores a très peu été étudiée. La mise au point des méthodes de lutte efficaces contre les cercosporioses nécessite une connaissance précise de la dynamique des populations de spores véhiculées par l'air. Pour cela, des méthodes de quantification des inoculums conidiens et ascospores sont en cours de développement et sont appliquées pour caractériser et quantifier les deux types de spores produits à l'échelle parcellaire, et ce au cours de plusieurs cycles de culture bananière. La méthodologie de quantification consiste en trois étapes. (i) La capture des spores (inoculum total) est faite à l'aide de piège à spores hebdomadaires volumétriques de type BUCKARD positionnés sur la parcelle à des lieux et des hauteurs différentes. (ii) La quantification des conidies est réalisée de manière directe par microscopie optique sur le bande de capture alors que (iii) la densité de ascospores présentes dans l'inoculum capté est déterminée de manière indirecte par PCR en temps réel. Cette méthodologie a nécessité une mise au point technique aux différentes étapes qui la constituent : broyage des échantillons, extraction et amplification de l'ADN fongique. La particularité du support de capture et la composition mixte des inoculums ont été les principaux obstacles à franchir pour permettre leur quantification. Les premiers résultats obtenus pour cette mise au point méthodologique et les premières quantifications des populations de spores seront ici présentés et discutés.

*Mots-clés* : cercosporiose du bananier, *Mycosphaerella musicola*, méthodes, quantification inoculums, microscopie, PCR en temps réel



## Effet des pratiques culturales appliquées dans le paysage sur les maladies aériennes du blé

M. Gosme (1,2), E. Kydjian (1,2), D. Marchand (1,2), M-H. Jeuffroy (1,2)

(1) INRA, UMR211 Agronomie, F-78850 Thiverval-Grignon, France

(2) AgroParisTech, UMR211 Agronomie, F-78850 Thiverval-Grignon, France

L'agriculture biologique est présentée comme une solution à certains problèmes posés par l'agriculture intensive et les surfaces cultivées en bio sont en augmentation dans de nombreux pays d'Europe et du monde. Cependant l'effet d'une augmentation significative de la proportion de surface bio sur les populations de bioagresseurs à l'échelle du paysage est inconnu et certains auteurs ont émis des craintes quant à l'augmentation des épidémies que pourrait causer l'augmentation des surfaces bio. Cet effet dépendra à la fois de la production d'inoculum dans les parcelles bio (relativement aux parcelles conventionnelles) et du risque de dispersion des maladies entre parcelles. L'objectif de cette étude était donc de déterminer si la présence de parcelles bio dans le voisinage et/ou les pratiques appliquées dans le paysage pouvaient influencer les épidémies de maladies aériennes du blé. Nous avons observé la dynamique des maladies aériennes (septoriose, oïdium, rouille brune et rouille jaune) dans 216 cultures de blé (réparties sur deux ans) conduites en bio ou en conventionnel et situées –ou non– au voisinage de parcelles bio. Parallèlement, les pratiques culturales de presque toutes les parcelles de la zone de 60 km<sup>2</sup> dans laquelle les observations ont été réalisées ont été recueillies auprès des agriculteurs et intégrées dans un SIG. Nous avons ainsi pu tester l'effet sur l'incidence des maladies, non seulement du mode de culture de la parcelle et des parcelles voisines mais aussi de variables paysagères (proportion de différentes occupations du sol et pratiques culturales moyennes dans des disques de rayons croissant autour du point d'observation). Les résultats sur l'ensemble des dates d'observation ont montré que la septoriose était significativement plus faible en bio qu'en conventionnel; il n'y avait pas d'effet significatif de la présence d'au moins une parcelle bio dans le voisinage immédiat sur l'incidence de la septoriose mais nous avons observé une corrélation négative significative entre l'incidence de la septoriose et la proportion d'agriculture biologique dans des rayons de 10 à 1000m en 2009 et de 10 à 100m en 2010. Aucun effet du mode de culture, ni dans la parcelle ni dans le voisinage immédiat, n'a pu être démontré pour l'oïdium toutes dates confondues, la corrélation entre l'incidence de l'oïdium et la proportion de cultures biologiques dans le paysage étant négative ou positive selon les dates d'observation. Les rouilles n'ont pratiquement jamais été observées au cours des deux années de l'étude. L'agriculture biologique ne semble donc pas avoir un impact néfaste en ce qui concerne les niveaux de maladies dans les champs voisins, du moins dans les conditions de l'étude.

*Mots-clés* : agriculture biologique, épidémiologie du paysage, septoriose, oïdium

**Estimation par ABC pour des modèles épidémiques métapopulationnels****E. Haon-Lasportes (1), J. Chadœuf (1), S. Soubeyrand (1)**

(1) INRA - UR546 Biostatistique et Processus Spatiaux - Domaine Saint-Paul - 84914 AVIGNON, France

Les méthodes de calcul bayésien approché (ABC) ont été développées depuis environ 10 ans (Pritchard et al., 1999 ; Beaumont et al., 2002 ; Marjoram et al., 2003), principalement en génétique des populations sur des problèmes de coalescence (un événement de coalescence est la représentation d'un ancêtre commun entre deux séquences génétiques dans le passé). Dans ce type de problème, une difficulté de calcul de la fonction de vraisemblance se présente et il est alors difficile d'inférer les paramètres du modèle. Les méthodes ABC permettent d'inférer des paramètres sans calculer la vraisemblance des données, en se basant sur un grand nombre de simulations et une comparaison entre données observées et données simulées. Elles reposent sur un choix de statistiques chargées de résumer les jeux de données et un choix de distance entre les statistiques. Depuis leurs débuts, ces méthodes ont été appliquées à d'autres problèmes que la coalescence : en biologie des systèmes pour obtenir les probabilités de différents modèles de transmission par exemple ; en écologie ; en paléontologie où des données de comptage de fossiles ont été utilisées pour inférer les paramètres d'un processus de branchement (Wilkinson and Tavaré, 2009) ; enfin en épidémiologie humaine sur l'étude de la résistance à un antibiotique par exemple (Luciani et al., 2009). Notre but est d'adapter l'ABC à l'inférence des paramètres d'un modèle épidémique métapopulationnel en épidémiologie végétale. Cette application ayant été peu étudiée, se posent alors les questions du choix des statistiques et du choix de la distance entre ces statistiques dans ce contexte bien particulier. Nous présentons une méthode ABC pour choisir des statistiques et une distance, et ainsi estimer les paramètres d'un modèle métapopulationnel en épidémiologie végétale, illustrée d'un exemple.

Beaumont MA, Zhang W, Balding DJ. 2002. Approximate Bayesian computation in population genetics. *Genetics* 162:2025-35.

Luciani F, Sisson SA, Jiang HL, Francis AR, Tanaka MM. 2009. The epidemiological fitness cost of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106:14711-15.

Marjoram P, Molitor J, Plagnol V, Tavaré S. 2003. Markov chain Monte Carlo without likelihoods. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:15324-28.

Pritchard JK, Seielstad MT, Perez-Lezaun A, Feldman MW. 1999. Population growth of human Y chromosomes: a study of Y chromosome microsatellites. *Mol. Biol. Evol.* 16:1791-98.

Wilkinson RD, Tavaré S. 2009. Estimating primate divergence times by using conditioned birth-and-death processes. *Theor. Popul. Biol.* 75:278-85

*Mots-clés* : modèle métapopulationnel, inférence, calcul bayésien approché, épidémiologie végétale

## Variabilité phénotypique de sensibilité et d'adaptation aux variations de pH des populations de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, champignon tellurique parasite des racines du blé

L. Lebreton, S. Daval, A-Y. Guillerm-Erckelboudt, C. Gracianne, K. Gazengel, M. Boutin, A. Sarniguet

INRA, Agrocampus Ouest, Université Rennes 1, UMR 1099 BiO3P « Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes », F-35653 Le Rheu, France

Les variations de pH de la rhizosphère affectent la disponibilité des éléments nutritifs pour la plante, la physiologie des racines mais aussi le développement et la survie des micro-organismes associés aux racines. Les champignons phytopathogènes peuvent survivre et infecter des plantes parce qu'ils possèdent des systèmes de perception du pH extérieur et d'adaptation aux variations de cette contrainte de l'environnement. La réponse physiologique des champignons à ces variations de pH est décrite, mais il existe peu d'informations sur la diversité phénotypique de réponse des populations parasitaires à ces variations. Le piétin-échaudage (P-E) du blé, dû au champignon ascomycète d'origine tellurique *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (*Ggt*), est une maladie du système racinaire du blé directement impactée par le pH des sols. Si cette maladie se développe dans toutes les régions tempérées du monde dans des sols de pH moyen compris entre 6 et 8,5, le champignon est cependant localement soumis dans la rhizosphère du blé à des pHs beaucoup plus acides (< 5). La sévérité du P-E est moins élevée dans les sols aux pHs très acides qu'aux pHs neutres (Smiley *et al.*, 1973). La sensibilité de 83 souches de *Ggt* d'une collection mondiale a été mesurée sur milieu minéral tamponné aux pHs 4,6, 6 ou 7. Une forte variabilité intra-spécifique de croissance sur milieu nutritif en fonction du pH existe : pour 20,5 % des souches, la croissance mycélienne est plus grande à pH 4,6 qu'aux pHs 6 et 7, alors que pour les autres souches, la croissance est plus forte à pH neutre ou à pH légèrement acide. La capacité à modifier le pH environnant de 3 souches de profils de sensibilité contrastés a été testée sur milieux minéraux non tamponnés préalablement ajustés aux pHs 5,6 ou 8. En milieu acide, ces souches sont toutes capables d'alcaliniser à distance leur milieu environnant mais des variations importantes entre souches de distance, de durée et d'intensité d'alcalinisation ont été mises en évidence. En milieu basique, elles acidifient leur milieu mais plus localement sous la zone de croissance du champignon. L'effet du pH sur les capacités de survie, de colonisation du système racinaire du blé et d'aptitude à la compétition de souches de *Ggt* est en cours d'investigation.

Smiley R.W. and Cook R.J. Relationship between take-all of wheat and rhizosphere pH in soils fertilized with ammonium vs. nitrate-nitrogen. *Phytopathology* 63:882-890.

*Mots-clés* : pH, diversité phénotypique, champignon, *Gaeumannomyces graminis*, piétin-échaudage, blé, alcalinisation, acidification.

## Réduction de la sévérité de la septoriose du blé au sein d'une association variétale

C. Gigot (1,2,3), S. Saint-Jean (2,1), L. Huber (1,2), **M. Leconte** (3), C. Maumené (4), C. de Vallavieille-Pope (3)

(1) INRA, UMR Environnement et Grandes Cultures, 78850 Thiverval-Grignon, France

(2) AgroParisTech, UMR Environnement et Grandes Cultures, 78850 Thiverval-Grignon, France

(3) INRA, UR BIOlogie et GEstion des Risques, 78850 Thiverval-Grignon, France

(4) ARVALIS Institut du Végétal, 3 rue Joseph et Marie Hackin, 75116 Paris, France

La septoriose du blé est potentiellement une des maladies foliaires les plus dommageables du point de vue du rendement. Les moyens de lutte contre la maladie reposent traditionnellement sur l'utilisation conjointe de fongicides et de résistances variétales. Néanmoins, des problématiques actuelles de contournement des gènes de résistance variétale, de perte d'efficacité des produits fongicides et de protection de l'environnement, nous incitent à développer des solutions alternatives ou du moins complémentaires. Le recours aux associations variétales figure parmi les initiatives à développer dans le contexte d'une agriculture à faible niveau d'intrant. Il a en effet été démontré pour plusieurs cultures que, outre la stabilisation du rendement, les associations variétales offrent une protection envers les maladies fongiques à dispersion éolienne. Toutefois, pour les maladies à dispersion pluviale, telle que la septoriose du blé due à *Mycosphaerella graminicola* (anamorphe : *Septoria tritici*), la littérature est parfois contradictoire. Des essais au champ conduits depuis 2008 sur le site de Grignon (Yvelines, France) ont permis d'étudier, pour différentes conditions pluviométriques, la progression hebdomadaire de la sévérité de la septoriose sur une variété de blé sensible en culture monovariétale ou en association, en l'absence de traitement fongicide. Les années où la pression en septoriose était modérée (2008 et 2009), dans l'association variétale (binaire : 25 % var. sensible et 75 % var. résistante), la sévérité de la maladie sur la variété sensible était systématiquement plus faible que dans la culture monovariétale (en moyenne -50 % en 2008 et -30 % en 2009 de surface malade sur les trois derniers étages foliaires). Dans des conditions de faible pression de maladie (printemps secs de 2010 et 2011), une tendance similaire a été observée mais n'était pas significative. Les autres mesures réalisées (surface foliaire verte et nombre de lésions sporulantes) confirment l'efficacité de cette association variétale à protéger la variété sensible en conditions de pression de maladie modérée. Suite à des événements pluvieux importants (plus de 10 mn de pluie en une journée), le nombre de lésions sporulantes a pu être diminué de moitié pour la variété sensible dans l'association par rapport à la culture pure. Cette étude s'inscrit dans une réflexion plus large visant à savoir si les associations variétales peuvent être considérées comme un élément pertinent d'un système de protection intégrée.

Saint-Jean S., Berhornoui B., Derbali F., Leconte M., de Vallavieille-Pope C., Huber L., 2008. *Aspects of Applied Biology* 89, 49-54.

de Vallavieille-Pope C., Belhaj Fraj M., Mille B., Meynard J.M. 2006. Les associations de variétés : accroître la biodiversité pour mieux maîtriser les maladies, p. 101-109. In: Gassel P., Clément O. (coord.). *Quelles variétés et semences pour des agricultures paysannes durables ?* Dossiers de l'environnement de l'INRA n° 30, 186 p.

*Mots clés* : *Mycosphaerella graminicola*, septoriose du blé, blé tendre, *Triticum aestivum*, dispersion par éclaboussement, association variétale

## Populations de *Bremia lactucae* en Provence

**B. Maisonneuve (1)**, S. Jeuniaux (1), E. Juillard (1), M. Lovera (1), J. Gaudin (1), R. Valade (2), C. Neema (2)

(1) INRA – UR1052, Unité de Génétique et d'Amélioration des Fruits et Légumes, Domaine Saint Maurice, BP94, 84143 Montfavet cedex

(2) AgroParisTech, UR BIOGER-CPP, Thiverval Grignon, 78850, France

Le mildiou provoqué par *Bremia lactucae* constitue un grave problème dans les cultures de laitues (*Lactuca sativa L.*) de toutes les régions tempérées. La lutte génétique est donc la voie privilégiée pour lutter contre cette maladie. Cependant, cette méthode de lutte a montré des limites avec un contournement des résistances utilisées dans les variétés commerciales. *B. lactucae* est un parasite obligatoire à multiplication asexuée dans les cultures de laitue ; il peut contaminer des adventices (*L. serriola*) et possède une phase sexuée. Les isolaments de souches de *Bremia* sont habituellement effectués sur des variétés cultivées possédant des combinaisons de résistance et souvent de nouvelles résistances. Pour avoir une meilleure connaissance des populations existant, nous avons constitué une collection d'isolats la plus représentative possible par isolement sur des variétés cultivées contaminées, mais aussi par piégeage de spores aériennes sur des variétés anciennes par l'intermédiaire de plantules en boîtes ou de plantes mises en cultures, et par isolement sur des plantes de *L. serriola*. Ainsi, près de 200 isolats collectés essentiellement en Provence entre 2006 et 2011 ont été analysés pour leur spectre de virulence sur une gamme de 24 hôtes différentiels et leur génotype ; le type sexuel a été identifié pour certains d'entre eux. Il apparaît une relative stabilité des virulences avec une diversité des spectres plus faibles en Provence que dans les autres régions. L'étude de ces populations a permis de mettre en évidence que des souches multivirulentes peuvent être isolées de variétés sans gènes de résistance correspondant à ces virulences, que les 2 types sexuels existent en Provence et peuvent même être isolés dans un même champ, que des isolats apparus spécifiquement sur une variété en 2006 peuvent perdurer plusieurs années après le retrait de la variété, que des isolats peuvent passer des adventices vers les variétés cultivées et qu'il n'est pas exclu qu'il y ait des recombinaisons sexuées en France. Ces résultats confirment l'intérêt de diversifier les gènes de résistance utilisés dans une région. Comme il est difficile de cumuler des résistances en raison de leur localisation sur des groupes de liaison, il semble intéressant d'envisager des rotations de gènes de résistance sur une parcelle pour améliorer la durabilité de la protection des cultures.

*Mots-clés* : mildiou, laitue, populations, type sexuel, virulence, résistance variétale

**Détection et quantification des ascospores de *Mycosphaerella graminicola* responsables de la phase précoce des épidémies de septoriose du blé****D. Morais**, F. Suffert, I. Sache, V. Laval

INRA, UR1290 BIOGER-CPP, F-78850 Thiverval-Grignon, France

Le cycle épidémique de *Mycosphaerella graminicola*, agent de la septoriose du blé, débute à l'automne par des infections primaires causées par les ascospores transportées par le vent. La compréhension des conditions de survie des ascospores sur les résidus de blé et des étapes précoces d'une épidémie nécessite une méthode de détection et de quantification de ces spores, qui peut s'avérer délicate en utilisant uniquement la microscopie. Une telle méthode, basée sur le couplage d'un piégeage des spores au champ avec une quantification par qPCR au laboratoire, a été mise au point. Trois étapes ont été menées en parallèle : i) capture de l'inoculum primaire (ascospores), à l'aide de deux pièges à aspiration Burkard, placés dans et à distance d'une parcelle de blé infectée, en continu pendant quatre mois (19 novembre 2010 - 5 avril 2011) ; ii) mise au point d'un protocole d'extraction permettant de quantifier l'ADN d'une quantité de spores connue, en utilisant deux systèmes qPCR (IGS et  $\beta$ -tubuline) ; iii) application de la méthode pour quantifier les ascospores collectées sur deux fois 100 bandes de piégeage pendant la période de quatre mois. De petites quantités d'ascospores de *M. graminicola* présentes dans l'atmosphère (en moyenne  $90 \text{ ascospores.m}^{-3}.\text{jour}^{-1}$ ) ont initialement été quantifiées pour quatre journées différentes. La méthode de quantification via le système IGS s'est révélée la plus sensible. L'ADN des ascospores collectées sur les bandes de piégeage restantes, conservées à  $-80^\circ\text{C}$ , sera extrait et quantifié selon le protocole mis en place. Cette quantification permettra d'obtenir l'évolution journalière de la quantité moyenne d'ascospores dans l'atmosphère pendant les phases précoces de l'épidémie. Les améliorations à apporter aux procédures de piégeage, d'extraction d'ADN et de quantification (sensibilité, spécificité, inhibition et limites de détection) ont été discutées. Cette méthode permettra d'identifier la nature de l'inoculum disponible (ascospores vs. pycnidiospores) et de le quantifier, d'identifier son origine (locale intra parcellaire vs. distante), et de déterminer sa quantité efficace (seuil permettant d'initier une épidémie vs. seuil de détection). Le couplage entre les données expérimentales du champ et la quantification au laboratoire ouvre des perspectives intéressantes dans un contexte plus général de biosécurité des cultures (détection précoce d'un agent phytopathogène indésirable) ou de diagnostic des maladies végétales.

*Mots-clés* : piège à spores ; inoculum primaire ; extraction ADN ; qPCR ; sensibilité ; biosécurité

**Le niveau de nutrition azotée affecte la sensibilité de la fraise à *Botrytis cinerea* et l'efficacité de produits stimulant les défenses de la plante**

P. Nicot (1), M. Bardin (1), F. Debruyne (2), M. Duffaud (1), F. Lecompte (2), L. Neu (1), M. Pascal (1)

(1) INRA, UR407 Pathologie végétale, Domaine Saint Maurice, BP94, F84143 Montfavet cedex, France.

(2) INRA, UR 1115 Plantes et Systems de Cultures horticoles, Domaine Saint Paul, Site Agroparc, F-84194, Avignon cedex, France

Des études ont montré l'influence de la nutrition azotée sur la sensibilité des plantes à certains ravageurs et agents pathogènes et sur la production de composés volatiles en réponse aux attaques d'herbivores. Bien que l'azote soit un élément clé dans de nombreux composés impliqués dans les mécanismes de défense chez les plantes, on sait peu sur l'effet possible de la fertilisation azotée sur l'efficacité de produits stimulateurs des défenses. Dans le présent travail, nous avons examiné les effets de cinq niveaux de nutrition azotée (0,5; 2; 5; 10 et 20 mmol L<sup>-1</sup> appliqués sous forme de nitrate dans un système hydroponique) sur la sensibilité de feuilles de fraisier à *Botrytis cinerea* et sur l'efficacité protectrice de Serenade Max (*Bacillus subtilis* QST713) et Chitoplant (chitosan), deux produits de lutte biologique présumés stimuler les mécanismes de défense des plantes. Deux jours après l'application des produits, des lots de disques de feuilles ont été excisés, inoculés avec *B. cinerea* et incubés dans des conditions propices au développement de la maladie. Les lésions ont été photographiées et leur surface a été évaluée à l'aide d'un logiciel d'analyse d'image. Pour les deux souches de *B. cinerea* testées, le niveau de fertilisation a eu un effet significatif ( $p < 0,01$ ) sur la sévérité de la maladie, avec des lésions plus petites et plus importantes, respectivement, sur les feuilles des plantes avec les niveaux minimum et maximum de fertilisation azotée. Les mêmes effets ont été observés pour les plantes traitées avec l'un ou l'autre des produits de lutte biologique. De plus, le niveau de fertilisation a influencé significativement ( $p < 0,01$ ) l'efficacité de la protection. Comparé au témoin non traité, Serenade Max a assuré une protection significative contre les deux souches de *B. cinerea* sur les plantes avec de faibles niveaux de fertilisation azotée (0,5 et 2 mmol L<sup>-1</sup>), mais pas sur ceux qui ont reçu des doses plus élevées. En revanche, Chitoplant n'a occasionné aucune protection significative contre la souche la plus agressive BC1. Un niveau de protection élevé (supérieur à 50%,  $p < 0,01$ ) a été observé contre la souche modérément agressive BC21, mais seulement pour les plantes avec de faibles niveaux de fertilisation N (0,5 et 2 mmol L<sup>-1</sup>). Les hypothèses possibles et la pertinence de ces résultats pour la protection intégrée seront discutées.

Mots-clés : pourriture grise, nitrate, *Fragaria ananassa*

## La rouille blanche du chrysanthème : stratégies de lutte contre un pathogène réglementé

J. Guerrand (1), O. Stapel (2), M. Aljabal (1), A. Picot (1), S. Hallier (1)

(1) Vegenov-BBV, Penn ar Prat, F-29250 St Pol de Léon, France

(2) STEPP Bretagne/Astredhor, 52 Rue de St Ilan, F-22360 Langueux, France

La rouille blanche du chrysanthème, dont l'agent causal est *Puccinia horiana*, est une maladie d'incidence économique considérable à la fois pour les producteurs multiplicateurs de jeunes plants de chrysanthème et pour les producteurs de plantes adultes. Inscrit sur la liste des pathogènes de quarantaine de l'OEPP (Organisation Européenne et méditerranéenne pour la Protection des Plantes), ce pathogène fait l'objet de mesures de lutte officielle en Europe (directive 2000/29/CE). A l'heure actuelle, les moyens de lutte à disposition des producteurs se limitent à des mesures prophylactiques et à l'utilisation de produits phytosanitaires conventionnels partiellement efficaces. En outre, dans un contexte de réduction de l'usage de ces produits, d'autres stratégies de lutte, plus respectueuses de l'environnement, doivent être développées. Parmi les solutions possibles, la résistance variétale ainsi que le recours à des produits de traitement dits «alternatifs», dont les stimulateurs de défense des plantes, offrent de nouvelles perspectives. Une meilleure connaissance du fonctionnement épidémiologique de la maladie s'avère également nécessaire pour mieux adapter les stratégies de lutte. En partenariat avec la Stepp/Astredhor, ces différents aspects ont été étudiés. Premièrement, l'efficacité de protection de différents produits alternatifs d'origine naturelle ou de synthèse a été évaluée au laboratoire. Pour certains produits, des niveaux d'efficacité de protection équivalents voire supérieurs aux références phytosanitaires ont été obtenus en conditions de laboratoire, puis validés en conditions de productions. En outre, la persistance d'action de ces produits ainsi que leur effet direct sur la germination des basidiospores ont également été évalués. Certains produits présentent un effet biocide direct sur *Puccinia horiana* tandis que d'autres agissent de manière indirecte probablement *via* une stimulation des mécanismes de défense des plantes. Deuxièmement, dans une démarche de sélection variétale, un test permettant d'évaluer phénotypiquement les variétés selon leur sensibilité à la rouille blanche a également été mis au point. A partir de ce test, il est prévu d'étudier la structure des populations de *Puccinia horiana* afin notamment d'identifier des gènes de résistance variétale pouvant être exploités par les sélectionneurs. Enfin, des études ont également été menées pour identifier les sources potentielles d'infection sur les sites de production. Des feuilles asymptomatiques, prélevées en sortie de pépinières, pouvaient développer des symptômes après une certaine période d'incubation, suggérant que la contamination peut provenir des jeunes plants de chrysanthème.

Mots-clés : chrysanthème, rouille blanche, résistance variétale, stimulation des défenses



## The application of percolation theory for predicting the invasive spread of a soil-borne fungal pathogen in the seedling propagation of field vegetables

S. Poggi (1), F.M. Neri (2), V. Deytieux (3), A. Bates (2), W. Otten (4), C.A. Gilligan (2), D.J. Bailey (1)

(1) INRA, UMR1099 BiO3P, 35653 Le Rheu Cedex, France.

(2) Department of Plant Sciences, University of Cambridge, Downing Street, Cambridge, CB2 3EA, UK

(3) INRA - Domaine Expérimental d'Epoisses, 21110 Bretenière, France

(4) University of Abertay, SIMBIOS, Dundee, DD1 1HG, UK

For many horticultural crops the production of seedlings involves routinely the growth, or propagation, of plants organised on a lattice within trays that are composed of units of varying size. The main identifying characteristic of seedling propagation is, therefore, the unit size of the propagation tray and thus, the planting density at which the seedlings are grown. Whether or not an infectious disease will spread among a population of hosts that have a fixed position in space and may only infect their nearest neighbours is well recognized as a percolation problem. Yet, despite recent advances, application of percolation theory in epidemiology has been limited to somewhat artificial systems. Previous work by Deytieux *et al.* (unpublished) examined the consistency of percolation theory for the spread and infestation of damping-off disease caused by *R. solani* in commercial propagation trays. Replicated experiments were conducted at several densities, classification of damping-off epidemics as invasive or non-invasive was achieved empirically (according to the goodness of fit of exponential, linear or monomolecular models to the disease progress curve), and threshold-like behaviour was demonstrated in response to changes in planting density. We propose here a simple epidemiological model, guided by percolation theory, from which we derive a more rigorous, risk-based invasion criterion, and define an epidemic risk that may imply a control decision. We consider a stochastic SI process on a square lattice where an epidemic spreads by the nearest-neighbour transmission of the pathogen, starting from a single infected host. Our model describes two processes: transmission of disease from the initially inoculated host to one of its neighbours, and subsequent secondary infections. Model parameters are estimated from data by means of Bayesian inference. We use computer simulations to generate disease progress curves with parameters sampled from the posterior distributions, and show a good agreement with experimental disease progress curves. Based on the posterior distribution of the probability of disease transmission as well as theoretical results (percolation threshold in a square lattice, mass of the spanning cluster), we derive an epidemic risk and a criterion for invasion. The epidemic risk predicted from the early disease patch dynamics may then be valuable to orient the management of disease.

*Keywords* : epidemiological modeling, percolation theory, soil-borne pathogens

**On the use of temporal variation in neutral genetic clines to estimate gene flow: a case study in a fungal plant pathogen**

A. Rieux (1), T. Lenormand (2), J. Carlier (1), L. De Lapeyre De Bellaire (3), **V. Ravigné** (1)

(1) CIRAD, UMR BGPI, Campus international de Baillarguet, TA A-54K, F-34398

(2) CEFE-CNRS, UMR 5175, 1919 route de Mende F-34293

(3) CIRAD, Persyst, UPR Syst. Banan. Ananas, TA B-26 / PS4, Blvd. de la Lironde, 34398 Montpellier Cedex 5

Neutral genetic clines theory provides a powerful conceptual framework to estimate the strength of dispersal in natural populations, especially in the case of populations deviating from genetic equilibrium. In the present study, we introduce a new method based on the analysis of the rate of change in the shape of clines observed at unlinked neutral markers and further apply this method in the case of a plant pathogen fungus in which a secondary contact between two genetically differentiated populations have been previously detected. We observe genetic clines of allelic frequencies at 8 out of the 15 microsatellites markers studied and further analyse the temporal evolution of these multilocus genetic clines over 2 years (approx. 15 generations). We show that all cline centres are coincident and stable in time. In addition, over the studied period, these clines gradually vanish at a common pace. These findings are consistent with the hypothesis that clines evolve under the effect of migration only and that this migration is isotropic along the considered area. Confronting a theoretical model of the temporal dynamics of neutral genetic clines under migration, we estimate the intensity of gene flow in this area. Under diffusion approximation and assuming constant migration through time, we find that  $\sigma$ , the so-called root square in axial parent-offspring distance is equal to 1175 metres/generation. Finally theoretical simulations show that the method of migration estimation is robust to deviations to diffusion approximation and the time since secondary contact. Our results illustrate that combining landscape genetics approaches to detect sharp breaks in allelic frequencies distribution over space with analyses of genetic clines temporal variation offers a convenient way to gain solid information on gene movements.

*Keywords* : demographic parameter estimate, migration, population genetics

## Quantification des composantes d'agressivité de *Mycosphaerella graminicola*, agent de la septoriose du blé

F. Suffert, I. Sache, C. Lannou

INRA, UR1290 BIOGER-CPP, F-78850 Thiverval-Grignon, France

La quantification des composantes d'agressivité de *M. graminicola* en conditions contrôlées, proches de celles observées au champ pendant la phase épidémique, est requise pour estimer la résistance quantitative du blé de façon réaliste. L'objectif de cette étude est de mettre au point et valider une méthode permettant de quantifier le développement de lésions pendant un cycle infectieux asexué. Pour cela, des inoculations localisées ont été pratiquées sur des plantes adultes en utilisant des concentrations modérées d'inoculum ( $10^5$  conidies mL<sup>-1</sup>). Les surfaces chlorotique, nécrotique et sporulante (avec pycnides), ainsi que le nombre de pycnides, ont été estimés visuellement tous les 3-4 jours en serre pendant deux mois. Un modèle de Gompertz a été ajusté aux courbes décrivant la cinétique de ces différents symptômes. La méthode a été validée par une expérimentation en serre en 2009 et répétée à l'identique en 2010 : les feuilles de quatre cultivars de blé parmi les plus cultivés en France (Apache, Soissons, Caphorn, Koreli) ont été inoculées avec quatre isolats de *M. graminicola*. Les corrélations entre composantes d'agressivité, notamment celles reliant dynamique des symptômes et capacité de sporulation (nombre moyen de pycnides et nombre moyen de pycnidiospores émises par une pycnide) ont été calculées et discutées, dans une perspective technique (choix de variables pertinentes) et biologique (présence ou absence de trade-offs). Parmi les 18 variables épidémiologiques résultant de l'analyse, celles ayant un sens biologique fort ont été retenues comme composantes d'agressivité principales : période d'incubation (durée entre l'inoculation et l'apparition des premières chloroses), période de latence (durée entre l'inoculation et l'apparition des premières pycnides), vitesse de développement des surfaces nécrotiques et sporulantes, surface sporulante maximale, aire sous la courbe de surface sporulante, nombre maximal de pycnides, nombre moyen de pycnidiospores émises par un pycnide. La méthode, appliquée à l'étude de la réponse différentielle de deux sous-populations de *M. graminicola* sur le cultivar Soissons (15 isolats collectés avant l'hiver en début d'épidémie et 15 collectés en fin d'épidémie ; test au chaud sur plantes adultes et au froid sur plantules), a permis de mettre en évidence une adaptation saisonnière à la température de certaines composantes d'agressivité de chaque sous-populations.

*Mots-clés* : incubation ; latence ; résistance quantitative ; sporulation

## Fusariose des épis sur blé tendre : comportement de *Microdochium majus* en comparaison à *Fusarium graminearum* à l'échelle d'un épi

J. Toussaint-Ferreyrolle (1), B. Brochot (1), E. Gourdain (2), T. Jacquin (2), A. Leclere (2), C. Lequeux (2), S. Queraud (1), C. Vitry (1), C. Maumene (2)

(1) ARVALIS Institut du Végétal, Laboratoire de Pathologie végétale, Domaine AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, Bâtiment INRA Bioger-CPP, 78850 Thiverval-Grignon, France.

(2) ARVALIS Institut du Végétal, Station Expérimentale, 91720 Boigneville, France

La fusariose des épis du blé tendre est une maladie causée par un complexe d'espèces de champignons des genres *Fusarium* et *Microdochium*, cohabitant sur un même épi mais possédant chacune leurs particularités. Parmi les espèces impliquées, si l'épidémiologie et les symptômes causés par *Fusarium graminearum* sont bien connus, l'état des connaissances sur *Microdochium majus*, dont l'occurrence en France n'est pas négligeable, présente encore de nombreuses lacunes. La menace représentée par ces deux champignons est différente. En effet, *F. graminearum* produit du Desoxynivalenol (DON), mycotoxine actuellement réglementée, alors que *Microdochium* spp influe plus fortement sur le rendement, sans produire de toxine. L'objectif de notre étude est de compléter les connaissances sur *M. majus* par une approche comparative avec *F. graminearum*. Par ce travail, nous avons évalué la progression sur l'épi de deux espèces responsables de la fusariose, *Fusarium graminearum* et *Microdochium majus*, et appréhendé leur capacité à causer une rupture d'alimentation de l'épi. Des micro-contaminations en plein champ ont été effectuées à la floraison par dépôt de  $10^3$  spores de *Fusarium graminearum* ou *Microdochium majus* au niveau des pièces florales d'un épillet médian d'un épi de blé tendre. Cette contamination a été répétée sur 50 épis pour chaque espèce de champignon, avec 50 épis témoins. Un suivi visuel des symptômes a été réalisé toutes les 48 heures jusqu'à la maturité des grains. A la récolte, les grains d'un même étage des 50 épis constituant une modalité ont été regroupés en fonction de leur distance au point de contamination. Par cette approche, il a été possible de constituer des lots suffisamment conséquents pour permettre la quantification des toxines (par HPLC MSMS) ainsi que du champignon inoculé (par PCR en temps réel) dans les différents étages des épis. Si la rapidité d'apparition des symptômes a été identique pour les deux espèces (48 heures), leur évolution a permis de distinguer des disparités. *F. graminearum*, conformément aux données bibliographiques, a rapidement progressé sur l'épi, générant le symptôme bien connu d'un tronçon d'épi brun-rose. La quantification du champignon à la récolte a montré qu'il est capable d'infecter le rachis puis semble descendre jusqu'au col de l'épi. La présence conjointe de DON et de *F. graminearum* (positivement corrélée,  $r^2=0,86$ ) rejoint les études décrivant cette toxine comme un agent de pathogénicité. Par contre, si l'apparition des symptômes de *M. majus* au niveau de l'épillet contaminé a été rapide, ce champignon n'a pas progressé dans l'épi au cours de la culture. La quantification de *M. majus* dans les différents étages ainsi que dans le rachis et le col de l'épi a confirmé que ce champignon ne semble pas posséder la capacité de coloniser l'épi à partir d'un épillet infecté. Ainsi, contrairement à *F. graminearum*, aucune rupture de l'alimentation de l'épi n'a été mise en évidence et l'impact de *M. majus* sur le poids des grains n'est visible qu'au point de contamination. La même approche est maintenant nécessaire pour la seconde espèce de *Microdochium* (*M. nivale*), ayant une occurrence proche de celle de *M. majus*, afin de confirmer ou infirmer un comportement similaire.

# **Journées Jean Chevaugeon 2012**

## **LISTE DES PARTICIPANTS**

**PARTICIPANTS JJC 2012**

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
Abro	Manzoor Ali	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	mmanzoorabro@hotmail.com
Adreit	Henri	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	henri.adreit@cirad.fr
Aguayo	Jaime	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, route d'Amance, 54280 Champenoux, France	jaguayo@nancy.inra.fr
Allasia	Valérie	INRA, UMR 1355 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	valerie.allasia@sophia.inra.fr
Andrieux	Axelle	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, route d'Amance, 54280 Champenoux, France	andrieux@nancy.inra.fr
Arfi	Yonathan	INRA, UMR 1163 BCF, Faculté des Sciences de Luminy, Bat ESIL, 163 avenue de Luminy, 13288 Marseille, France	yonathan.arfi@gmail.com
Atuahiva	Timeri	Etablissement Vanille de Tahiti, RAIATEA, 98735 UTUROA-RAIATEA, Polynésie Française	tim_atuahiva@yahoo.fr
Azeddine	Saad	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	saad.azeddine@versailles.inra.fr
Bardin	Marc	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	marc.bardin@avignon.inra.fr
Barrés	Benoit	INRA, UMR 1202 BIOGECO, Domaine de l'Hermitage, 69 route d'Arcachon, 33610 Cestas, France	benoit.barres@pierroton.inra.fr
Boedo	Cora	INRA, UMR 1095 GDEC, INRA-Univ Blaise Pascal, 234 avenue du Brezet, 63100 Clermont Ferrand, France	cora.boedo@clermont.inra.fr
Bonneville	Jean-Marc	CNRS, UMR 5553 LECA, UJF - CNRS, BP 53, 2233 rue de la Piscine, 38041 Grenoble, France	jean-marc.bonneville@ujf-grenoble.fr
Bourget	Romain	Université d'Angers, LAREMA, Département de Mathématiques, UFR Sciences, 2 Boulevard Lavoisier, 49045 Angers, France	bourget@math.univ-angers.fr
Bousset	Lydia	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	bousset@rennes.inra.fr
Brigitte	Laëtitia	INRA, URGI, Centre de recherches de Versailles, RD10, route de Saint Cyr, 78026 Versailles, France	laetitia.brigitte@versailles.inra.fr
Bruel	Christophe	Université Lyon 1, UMR 5240 MAP, Bat Lwoff, 10 rue Dubois, 69622 Villeurbanne Cedex, France	christophe.bruel@univ-lyon1.fr
Brun-Jacob	Annick	Université de Lorraine, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, route d'Amance, 54280 Champenoux, France	Annick.Brun@scbiol.uhp-nancy.fr
Callac	Philippe	INRA, UR 1264 MycSA, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ormon Cedex, France	callac@bordeaux.inra.fr
Calmes	Benoît	Université d'Angers, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, UFR Sciences, 2 boulevard Lavoisier, 49045 Angers, France	calmes.b@gmail.com
Calonnec	Agnès	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ormon Cedex, France	calonnec@bordeaux.inra.fr
Cariou	Emmanuelle	Institut Technique du Lin, Antenne ITL Cetiom, Avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval-Grignon, France	emmanuelle.cariou@lin-itl.com
Carpentier	Florence	AgroParisTech, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris Cedex 05, France	florence.carpentier@agroparistech.fr
Castel	Magda	Agrocampus Ouest, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, 65 rue de Saint Briec, 35042 Rennes Cedex, France	castel@agrocampus-ouest.fr
Chaouch	Sejir	Université Paris Sud 11, UMR 8618 IBP, CNRS-UPS, Bât 630, 91405 Orsay, France	sejir.chaouch@u-psud.fr
Chetouhi	Cherif	INRA, UMR 1095 GDEC, INRA-Univ Blaise Pascal, 234 avenue du Brezet, 63100 Clermont Ferrand, France	cherif.chetouhi@clermont.inra.fr
Chilin Charles	Yolande	CIRAD, UMR BGPI, Station CIRAD - Neufchateau, Ste Marie, 97130 Capesterre Belle Eau, Guadeloupe, France	yolande.chilin-charles@cirad.fr

**PARTICIPANTS JJC 2012**

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
Clément	Christophe	Université de Reims, UFR Sciences, URVVC, laboratoire SDRP, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France	christophe.clement@univ-reims.fr
Clergeot	Pierre-Henri	Växthfysiologi Botaniska Institutionen , Lillafrescativägen 5 Stockholms Universitet, SE 10691 Stockholm, Suède	clergeot@botan.su.se
Colas	Steven	Université de Reims, UFR Sciences, URVVC, laboratoire SDRP, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France	steven.colas@etudiant.univ-reims.fr
Confais	Johann	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	johann.confais@versailles.inra.fr
Danchin	Etienne	INRA, UMR 1355 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	Etienne.Danchin@sophia.inra.fr
Daval	Stéphanie	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	Stephanie.Daval@rennes.inra.fr
De Gracia	Marie	INRA, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzè Cedex, France	marie.de-gracia@angers.inra.fr
De Mita	Stéphane	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, route d'Amance, 54280 Champenoux, France	demita@gmail.com
Didier	Agnès	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, route d'Amance, 54280 Champenoux, France	agdidier@nancy.inra.fr
Djelloul	Radia	Centre Universitaire d'El Tarf, CUET BP 73 Wilaya d'El Tarf, 36000 El Tarf, Algérie	radia_d@yahoo.fr
Dogimont	Catherine	INRA, UR 1052 UGAFI, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	catherine.dogimont@avignon.inra.fr
Dron	Michel	Université Paris Sud 11, UMR 8618 IBP, CNRS-UPS, Bât 630, 91405 Orsay, France	michel.dron@u-psud.fr
Dubois	Marie-Pierre	CNRS, UMR 5175 CEFE, CNRS-UM2, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier, France	marie-pierre.dubois@cefe.cnrs.fr
Duffaud	Magali	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	magali.duffaud@avignon.inra.fr
Dufour	Marie-Cécile	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	dufour@bordeaux.inra.fr
Dumas	Bernard	CNRS, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	dumas@lrsv.ups-tlse.fr
Duplessis	Sébastien	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, route d'Amance, 54280 Champenoux, France	duplessi@nancy.inra.fr
Dutech	Cyril	INRA, UMR 1202 BIOGECO, Domaine de l'Hermitage, 69 route d'Arcachon, 33610 Cestas, France	Cdutech@bordeaux.inra.fr
Fernandez	Diana	IRD, UMR 186 RPB, IRD-UM2-Cirad, 911 avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France	DIANA.FERNANDEZ@IRD.FR
Formey	Damien	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	formey@lrsv.ups-tlse.fr
Frey	Pascal	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, route d'Amance, 54280 Champenoux, France	Pascal.Frey@nancy.inra.fr
Fudal	Isabelle	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	Isabelle.Fudal@versailles.inra.fr
Gagey	Marie-Josephe	CNRS, UMR 5240 MAP, Bayer SA, 14-20 rue Pierre Baizet , 69263 Lyon Cedex 09, France	marie-joseph.gagey@bayer.com
Gascuel	Quentin	INRA, UMR 441 LIPM, INRA-CNRS, BP525627, 31326 Castanet Tolosan Cedex, France	quentin.gascuel@toulouse.inra.fr
Gaulin	Elodie	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	gaulin@lrsv.ups-tlse.fr
Gautier	Angélique	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	agautier@versailles.inra.fr

**PARTICIPANTS JJC 2012**

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
Gazengel	Kevin	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	kevin.gazengel@rennes.inra.fr
Gérard	Clémentine	Université de Reims, UFR Sciences, URVVC, laboratoire SDRP, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France	clementine.gerard@etudiant.univ-reims.fr
Godiard	Laurence	INRA, UMR 441 LIPM, INRA-CNRS, BP525627, 31326 Castanet Tolosan Cedex, France	laurence.godiard@toulouse.inra.fr
Gonthier	Paolo	Université de Turin, rue L. da Vinci 44, 10095 Grugliasco, Italie	paolo.gonthier@unito.it
Gosme	Marie	INRA, UMR 0211 Agronomie, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	marie.gosme@grignon.inra.fr
Gout	Lilian	AgroParisTech, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	gout@versailles.inra.fr
Grandaubert	Jonathan	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	jonathan.grandaubert@versailles.inra.fr
Grognet	Pierre	Université Paris Sud 11, Université Paris Diderot, IGM, Bat. 400, 91405 Orsay Cedex, France	pierre.grognet@igmors.u-psud.fr
Gruau	Charlotte	Université de Reims, UFR Sciences, URVVC, laboratoire SDRP, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France	charlotte.gruau@univ-reims.fr
Guillemette	Thomas	Université d'Angers, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, UFR Sciences, 2 boulevard Lavoisier, 49045 Angers, France	thomas.guillemette@univ-angers.fr
Guillerm-Erckelboudt	Anne-Yvonne	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	anne-yvonne.guillerm@rennes.inra.fr
Guinberteau	Jacques	INRA, UR 1264 MycSA, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Omon Cedex, France	guinbert@bordeaux.inra.fr
Hallier	Sonia	Vegenov-BBV, Penn ar Prat, 29250 Saint Pol de Léon, France	hallier@vegenov.com
Hamelin	Frédéric	Agrocampus Ouest, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, 65 rue de Saint Brieuc, 35042 Rennes Cedex, France	fhamelin@agrocampus-ouest.fr
Haon-Lasportes	Emilie	INRA, UR 546 BioSP, Domaine Saint-Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon Cedex 9, France	emilie.haonlasportes@avignon.inra.fr
Haouy	Alexandra	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	haouy@lrsv.ups-tlse.fr
Hecker	Arnaud	Université de Lorraine, UMR 1136 IAM, Faculté des Sciences et Technologies, Bd des Aiguillettes, BP70239, 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy, France	arnaud.hecker@scbiol.uhp-nancy.fr
Henrissat	Bernard	CNRS, UMR 6098 AFMB, CNRS - Universités Aix-Marseille, 163 avenue de Luminy, 13288 Marseille, France	bernard.henrissat@afmb.univ-mrs.fr
Hossard	Laure	INRA, UMR 0211 Agronomie, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	laure.hossard@grignon.inra.fr
Husson	Claude	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, route d'Amance, 54280 Champenoux, France	claud.husson@nancy.inra.fr
Ioos	Renaud	Anses, Laboratoire Santé des Végétaux, Domaine de Pixérécourt, Bat E, BP90059, 54220 Malzéville, France	renaud.ioos@anses.fr
Jeandroz	Sylvain	AgroSup Dijon, 26 Bd Dr Petitjean, 21000 Dijon, France	s.jeandroz@agrosupdijon.fr
Keller	Harald	INRA, UMR 1355 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	keller@sophia.inra.fr
Kroj	Thomas	INRA, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	thomas.kroj@supagro.inra.fr
Kröner	Alexander	Agrocampus Ouest, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, 65 rue de Saint Brieuc, 35042 Rennes Cedex, France	kroner@agrocampus-ouest.fr
Kuhn	Marie-Line	INRA, UMR 1355 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	kuhn@sophia.inra.fr



**PARTICIPANTS JJC 2012**

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
Laine	Anna-Liisa	University of Helsinki, Department of Biosciences PO Box 65 (Viikinkaari 1), FI-00014 Helsinki, Finlande	anna-liisa.laine@helsinki.fi
Lalucque	Hervé	Université Paris Sud 11, Université Paris Diderot, IGM, Bat. 400, 91405 Orsay Cedex, France	herve.lalucque@igmors.u-psud.fr
Landry	Clara	CIRAD, UMR BGPI, Station CIRAD - Neufchateau, Ste Marie, 97130 Capesterre Belle Eau, Guadeloupe, France	clara.landry@cirad.fr
Langin	Thierry	INRA, UMR 1095 GDEC, INRA-Univ Blaise Pascal, 234 avenue du Brezet, 63100 Clermont Ferrand, France	Thierry.langin@clermont.inra.fr
Lannou	Christian	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	lannou@grignon.inra.fr
Lapalu	Nicolas	INRA, URGI, Centre de recherches de Versailles, RD10, route de Saint Cyr, 78026 Versailles, France	nicolas.lapalu@versailles.inra.fr
Laval	Valérie	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	vlaival@versailles.inra.fr
Le Cam	Bruno	INRA, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé Cedex, France	lecam@angers.inra.fr
Lebreton	Lionel	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	Lionel.Lebreton@rennes.inra.fr
Lebrun	Marc-Henri	CNRS, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	marc-henri.lebrun@versailles.inra.fr
Lecomte	Mickaël	Agrocampus Ouest Centre d'Angers, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 2 rue André Le Nôtre, 49045 Angers, France	mickael.lecomte@agrocampus-ouest.fr
Lecomte	Philippe	INRA, UMR 1095 GDEC, INRA-Univ Blaise Pascal, 234 avenue du Brezet, 63100 Clermont Ferrand, France	philippe.lecomte@clermont.inra.fr
Leconte	Marc	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	leconte@grignon.inra.fr
Lemaire	Christophe	Université d'Angers, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé Cedex, France	christophe.lemaire@univ-angers.fr
Leroy	Thibault	INRA, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé Cedex, France	thibault.leroy@angers.inra.fr
Leyronas	Christel	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	christel.leyronas@avignon.inra.fr
Linglin	Juliette	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	juliette.linglin@versailles.inra.fr
Llarena Hernandez	Régulo Carlos	INRA, UR 1264 MycSA, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ormon Cedex, France	carlos_llarena@yahoo.com.mx
Maisonneuve	Brigitte	INRA, UR 1052 UGAFI, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	Brigitte.Maisonneuve@avignon.inra.fr
Malbreil	Mathilde	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	malbreil@lrsv.ups-tlse.fr
Marquer	Bruno	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	bruno.marquer@rennes.inra.fr
Moles	Marion	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	moles@lrsv.ups-tlse.fr
Morais	David	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	david.morais@versailles.inra.fr
Morel	Mélanie	Université de Lorraine, UMR 1136 IAM, Faculté des Sciences et Technologies, Bd des Aiguillettes, BP70239, 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy, France	mmorel@scbiol.uhp-nancy.fr
Morris	Cindy	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	cindy.morris@avignon.inra.fr
Naruzawa	Erika Sayuri	Université Laval, 1030, avenue de la Médecine, G1V0A6 Québec, Canada	erika-sayuri.naruzawa.1@ulaval.ca

**PARTICIPANTS JJC 2012**

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
Neema	Claire	AgroParisTech, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	neema@agroparistech.fr
Nicot	Philippe	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	philippe.nicot@avignon.inra.fr
Ortega-Abboud	Enrique	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	3nrique.0@gmail.com
Panabieres	Franck	INRA, UMR 1355 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	Franck.Panabieres@sophia.inra.fr
Papaix	Julien	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	julien.papaix@jouy.inra.fr
Parlange	Francis	University of Zurich, Institute of Plant Biology, Zollikerstrasse 107, 8008 Zurich, Suisse	f.parlange@access.uzh.ch
Pasco	Claudine	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	claudine.pasco@rennes.inra.fr
Pernaci	Michaël	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, route d'Amance, 54280 Champenoux, France	michael.pernaci@nancy.inra.fr
Petre	Benjamin	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, route d'Amance, 54280 Champenoux, France	Benjamin.Petre@nancy.inra.fr
Picot	Adeline	VegeNov-BBV, Penn ar Prat, 29250 Saint Pol de Léon, France	picot@vegenov.com
Poggi	Sylvain	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	sylvain.poggi@rennes.inra.fr
Ramirez	Diana	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	ramirez@lrsv.ups-tlse.fr
Ramirez-Suero	Montserrat	Université de Haute Alsace, Laboratoire LVBE, UFR-PEPS, 33 rue de Herrlisheim, 68008 Colmar, France	montserrat.ramirez@gmail.com
Rascle	Christine	CNRS, UMR 5240 MAP, Université Lyon 1, Bat Lwoff, 10 rue Dubois, 69622 Villeurbanne Cedex, France	christine.rascle@bayer.com
Ravigne	Virginie	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	virginie.ravigne@cirad.fr
Redecker	Dirk	Université de Bourgogne, UMR 1347 Agroécologie, INRA, BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon, France	dirk.redecker@dijon.inra.fr
Rey	Thomas	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	rey@lrsv.ups-tlse.fr
Richard	Franck	CNRS, UMR 5175 CEFE, CNRS-UM2, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier, France	franck.richard@cefe.cnrs.fr
Richard	Benjamin	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	benjamin.richard@rennes.inra.fr
Rincon	Ana Maria	CSIC, Serrano 115bis, 28006 Madrid, Espagne	ana.rincon@ccma.csic.es
Rosso	Marie-Noëlle	INRA, UMR 1163 BCF, Faculté des Sciences de Luminy, Bat ESIL, 163 avenue de Luminy, 13288 Marseille, France	marie-noelle.rosso@univmed.fr
Roux	Christophe	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	roux@lrsv.ups-tlse.fr
Rouzel	Mélanie	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	melanie.rouzel@bordeaux.inra.fr
Rouzel	Thierry	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	Thierry.Rouzel@versailles.inra.fr
Roy	Julien	CNRS, UMR 5553 LECA, UJF - CNRS, BP 53, 2233 rue de la Piscine, 38041 Grenoble, France	royju@mail.ujf-grenoble.fr
Sache	Ivan	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	sache@grignon.inra.fr

**PARTICIPANTS JJC 2012**

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
Saïndrenan	Patrick	CNRS, UMR 8618 IBP, CNRS-Université Paris Sud 11, Bât 630, 91405 Orsay, France	patrick.saïndrenan@u-psud.fr
Sapoukhina	Natalia	INRA, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucoüzé Cedex, France	Natalia.Sapoukhina@angers.inra.fr
Saubeau	Guillaume	Agrocampus Ouest, UMR 1349 IGEPP, INRA - Agrocampus Ouest - Université Rennes 1, 65 rue de Saint Brieuc, 35042 Rennes Cedex, France	saubeau@agrocampus-ouest.fr
Sauve	Mathieu	CNRS, UMR 5175 CEFE, CNRS-UM2, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier, France	mathieu.sauve@cefe.cnrs.fr
Selosse	Marc	Université Montpellier II, UMR 5175 CEFE, CNRS-UM2, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier, France	ma.selosse@wanadoo.fr
Shahin	Oula	CNRS, UMR 5175 CEFE, CNRS-UM2, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier, France	oulashahin@yahoo.fr
Soyer	Jessica	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	jessica.soyer@versailles.inra.fr
Suffert	Frédéric	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	fsuffert@grignon.inra.fr
Taschen	Elisa	CNRS, UMR 5175 CEFE, CNRS-UM2, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier, France	elisa.taschen@cefe.cnrs.fr
Terauchi	Ryohei	Iwate Biotechnology Research Center, Narita 22-174-4, Kitakami, 024-003 IWATE, Japon	terauchi@ibrc.or.jp
Tharreau	Didier	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	tharreau@cirad.fr
Thuillier	Anne	Université de Lorraine, UMR 1136 IAM, Faculté des Sciences et Technologies, Bd des Aiguillettes, BP70239, 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy, France	Anne.Thuillier@scbiol.uhp-nancy.fr
Toussaint-Ferreyrolle	Julie	Arvalis Institut du Végétal, Domaine AgroParisTech, Bât INRA BIOGER-CPP, 78850 Thiverval-Grignon, France	j.toussaint-ferreyrolle@arvalisinstitutduvegetal.fr
Varain	Lauriane	Université laval, 1030, avenue de la Médecine, G1V0A6 Québec, Canada	lauriane.varain.1@ulaval.ca
Veneault-Fourrey	Claire	Université de Lorraine, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, route d'Amance, 54280 Champenoux, France	claire.fourrey@scbiol.uhp-nancy.fr
Vincenot	Lucie	Fondazione Edmund Mach, via E. Mach, 1, 38010 San Michele all'Adige (TN), Italie	Impvincenot@gmail.com
Xhaard	Constance	INRA, UR 546 BioSP, Domaine Saint-Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon Cedex 9, France	constance.xhaard@avignon.inra.fr