



**HAL**  
open science

## Analyse de l'interaction entre les gènes d'avirulence AvrLm3 et AvrLm4-7 chez *Leptosphaeria maculans*

Clémence Plissonneau, Marie-Helene Balesdent, Isabelle Fudal, Thierry Rouxel

► **To cite this version:**

Clémence Plissonneau, Marie-Helene Balesdent, Isabelle Fudal, Thierry Rouxel. Analyse de l'interaction entre les gènes d'avirulence AvrLm3 et AvrLm4-7 chez *Leptosphaeria maculans*. 10es Rencontres de Phytopathologie-Mycologie de la Société Française de Phytopathologie (SFP), Jan 2014, Aussois, France. p. 52. hal-01019592

**HAL Id: hal-01019592**

**<https://hal.science/hal-01019592>**

Submitted on 5 Jun 2020

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

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

# Journées Jean Chevaugeon 2014



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

27 au 31 janvier 2014

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

<https://colloque.inra.fr/jjc2014/>



Science For A Better Life

# Journées Jean Chevaugeon 2014

Après deux éditions organisées par nos collègues nancéiens, le nouveau Comité d'Organisation grignonnais a le plaisir et l'honneur d'organiser la 10<sup>e</sup> cuvée des JJC. Nous célébrerons dignement ce millésime anniversaire en restant dans la continuité des neuf éditions précédentes et en défendant les valeurs qui ont fait le succès et la renommée de ces journées. Les JJC2014 seront une trêve montagnarde pour tous les participants ; échappant un instant à leur quotidien de travail, ils profiteront de ce moment d'immersion et d'échanges fructueux parmi la communauté élargie des phytopathologistes et mycologues, dans l'ambiance conviviale et détendue emblématique des JJC. Comme les années précédentes, le programme de ces journées a été élaboré de façon à laisser une large place aux étudiants et aux jeunes chercheurs, notamment en leur rendant une parole qui leur est souvent confisquée.

Dans le cadre de cette 10<sup>e</sup> édition, nous remercierons particulièrement trois légendes vivantes des JJC, Marc-Henri Lebrun, Michel Dron et Francis Martin, impliqués dans la création des JJC et symbole de leur perpétuation et du transfert des savoirs vers les générations suivantes.

Ivan Sache et Vincent Gitton

Les organisateurs remercient l'INRA, le CIRAD, la Société BAYER et la SFP pour leur soutien financier aux journées Jean Chevaugeon 2014.

## Le Comité d'Organisation :

Ivan Sache	AgroParisTech Paris/Grignon
Vincent Gitton	INRA Grignon

## Le Comité Scientifique :

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

# 10<sup>es</sup> Journées Jean Chevaugeon

27 – 31 janvier 2014

Centre Paul Langevin, Aussois (France)

## Programme

### Lundi 27 janvier – après-midi

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

### Mardi 28 janvier - matin

8h30-9h10	<b>Ouverture des JJC par le Comité d'Organisation et le Président de la SFP - Célébration de la 10<sup>e</sup> édition des JJC</b> <u>Invités</u> <b>Marc-Henri Lebrun &amp; Michel Dron</b>
-----------	---

### Session 1 : GÉNÉTIQUE ET ÉVOLUTION DES POPULATIONS

Animateurs **Élisabeth Fournier** (INRA Montpellier)  
**Christophe Lemaire** (Université d'Angers)

9h10-9h40	<u>Conférencier invité</u> <b>Gilles Béna</b> (UMR LIMS, IRD Montpellier) Selection and evolution of N <sub>2</sub> fixing bacterial populations
-----------	---

9h40-10h00	<b>Antoine Persoons</b> (UMR IAM, INRA Nancy) Identification d'effecteurs de <i>Melampsora larici-populina</i> par une approche originale : de la génomique des populations à la génomique fonctionnelle
------------	---

10h00-10h20	<b>Michaël Pernaci</b> (UMR IAM, INRA Nancy) Étude du déterminisme génétique des traits de vie qualitatifs et quantitatifs de <i>Melampsora larici-populina</i> , agent de la rouille foliaire du peuplier
-------------	---

10h20-10h50	Pause café
-------------	------------

10h50-11h10	<b>Didier Tharreau</b> (UMR BGPI, CIRAD Montpellier) Aggressiveness traits, fitness and insights in their genetic basis in <i>Magnaporthe oryzae</i>
-------------	---

11h10-11h30	<b>Valérie Pujade-Renaud</b> (UMR AGAP, CIRAD Montpellier) La cassiicoline et le pouvoir pathogène de <i>Corynespora cassiicola</i>
-------------	--



- 11h30-11h50**      **Marie de Gracia** (*UMR IRHS, INRA Angers*)  
Génomique évolutive de l'agent pathogène de la tavelure du pommier, *Venturia inaequalis*, dans le cadre de la domestication de son hôte
- 11h50-12h10**      **Quentin Gascuel** (*UMR LIPM, INRA Toulouse*)  
Identification, variability and in planta expression of pathogenicity effectors of *Plasmopara halstedii*, the oomycete responsible for sunflower downy mildew
- 12h10-12h20**      **Présentation des posters des sessions** Génétique et évolution des populations et Génomique des champignons
- 12h30                Déjeuner

## Mardi 28 janvier - après-midi

- 16h00-17h30**      **Pause goûter et session posters** Génétique et évolution des populations et Génomique des champignons

## Session 2 : GÉNOMIQUE DES CHAMPIGNONS

Animateurs      **Isabelle Fudal** (INRA Grignon)  
**Franck Panabières** (INRA PACA)

- 17h30-18h00**      Conférencière invitée **Claire Gachon** (Scottish Marine Institute Oban, GB)  
La vie en bleu : génomique fonctionnelle et écologie des interactions algues - agents pathogènes
- 18h00-18h20**      **Sabine Fillinger** (*UR Bioger, INRA Grignon*)  
Characterization of molecular mechanisms underlying the multi-drug-resistant phenotypes of *Mycosphaerella graminicola* field isolates
- 18h20-18h40**      **Maíra de Freitas Pereira** (*UMR IAM, INRA Nancy*)  
Transcriptome analyses during basidiocarp formation in the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus microcarpus*
- 18h40-19h00**      **Mathilde Malbreil** (*UMR LRSV, INRA Toulouse*)  
Trojan horse strategy and fair trade among symbioses: how one fungal species can invade thousands of plant species with their agreement?
- 19h00-19h20**      **Isabelle Fudal** (*UR Bioger, INRA Grignon*)  
Implication d'un contrôle épigénétique dans l'expression des gènes codant des effecteurs chez *Leptosphaeria maculans*, champignon pathogène du colza
- 19h30                Dîner

**Mercredi 29 janvier – matin****Session 2 : GÉNOMIQUE DES CHAMPIGNONS (suite)**

- 8h30-8h50**      **Sébastien Duplessis** (*UMR IAM, INRA Nancy*)  
Spécificité d'expression des effecteurs candidats de l'agent de la rouille foliaire *Melampsora larici-populina* chez ses deux hôtes, le mélèze et le peuplier
- 8h50-9h10**      **Hélène Badouin** (*ESE, Université Paris-Sud*)  
Génomique de l'adaptation à l'hôte chez le champignon phytopathogène *Microbotryum violaceum*

**Session 3 : MYCOLOGIE GÉNÉRALE (TAXONOMIE, ÉCOLOGIE ET ÉVOLUTION)**

Animateurs      **Marc-André Selosse** (MNHN Paris)  
**Marc Buée** (INRA Nancy)

- 9h10-9h40**      Conférencière invitée **Maarja Õpik** (Université de Tartu, Estonie)  
Plant root symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi: patterns of diversity from global to local scales
- 9h40-10h00**      **Marine Peyret-Guzzon** (*UMR Agroécologie, INRA Dijon*)  
Changements à court terme de la composition des communautés de champignons mycorrhiziens à arbuscules et des populations de *Rhizophagus irregularis* en fonction des pratiques culturales
- 10h00-10h20**      **Charline Henry** (*UMR LSTM, AgroParisTech Montpellier*)  
Diversité des communautés ectomycorhiziennes dans une forêt tropicale à Madagascar ; application à la restauration écologique d'un site minier
- 10h20-10h50**      Pause café
- 10h50-11h10**      **Herminia de la Varga** (*UMR IAM, INRA Nancy*)  
L'utilisation de la PCR en temps réel pour la traçabilité des champignons comestibles ectomycorhiziens
- 11h10-11h30**      **Jean-Marc Bonneville** (*LECA, CNRS Grenoble*)  
Le pH et la longueur racinaire spécifique structurent les communautés fongiques dans les sols de prairie de montagne de trois pays
- 11h30-11h50**      **Marc Buée** (*UMR IAM, INRA Nancy*)  
Diversité des communautés de champignons ectomycorhiziens de hêtraies le long de gradients environnementaux en Europe

- 11h50-12h10**      **Gwenaëlle Comont** (*UMR SAVE, INRA Bordeaux*)  
Caractérisation des Botryosphaeriaceae associés aux maladies du bois de la vigne
- 12h10-12h20**      **Présentation des posters des sessions** Mycologie générale et Épidémiologie
- 12h30                Déjeuner

### Mercredi 29 janvier - après-midi

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

### Session 4 : ÉPIDÉMIOLOGIE

- Animateurs      **Agnès Calonnec** (INRA Bordeaux)  
                         **Frédéric Suffert** (INRA Grignon)
- 17h30-18h00**      Conférencier invité **Franck van den Bosch** (Rothamstead Research, GB)  
The use of models in the study of plant pathogen adaptation
- 18h00-18h20**      **Samuel Soubeyrand** (*UMR BioSP, INRA PACA*)  
*StrainRanking* - Une méthode statistique exploratoire (et un package R) pour classer des souches pathogènes en fonction de leur contribution à une épidémie naturelle
- 18h20-18h40**      **Julien Papaïx** (*UR BIOGER, INRA Grignon*)  
Allocation optimale de cultures dans un paysage agricole : conflits entre dynamique épidémique, durabilité de la résistance et évolution à long terme des populations pathogènes
- 18h40-19h00**      **Marie Gosme** (*UMR Agronomie, INRA Grignon*)  
PODYAM : une structure générique pour modéliser les dynamiques de populations dans les paysages agricoles
- 19h30                Dîner et soirée dansante

**Jeudi 30 janvier – matin****Session 4 : ÉPIDÉMIOLOGIE (suite)**

- 9h00-9h20**      **Benoît Marçais** (*UMR IAM, INRA Nancy*)  
Dispersion de *Hymenoscyphus albidus* à l'échelle d'une commune : effet des caractéristiques du paysage
- 9h20-9h40**      **Lydia Bousset** (*UMR IGEPP, INRA Rennes*)  
Transmission de *Leptosphaeria maculans* entre parcelles de saisons culturales successives
- 9h40-10h00**      **Frédéric Suffert** (*UR Bioger, INRA Grignon*)  
*Mycosphaerella graminicola* : même les hyperactifs sexuels ont parfois besoin d'un bon entremetteur
- 10h00-10h20**      **Frédéric Hameiin** (*UMR IGEPP, AgroCampus Ouest Rennes*)  
Mate limitation, recurrent epidemic outbreaks, and the coexistence of sexual and asexual plant parasites
- 10h20-10h50      Pause café
- 10h50-11h10**      **Henriette Goyeau** (*UR Bioger, INRA Grignon*)  
Relations entre composantes de la résistance quantitative et résistance au champ chez la rouille brune du blé causée par *Puccinia triticina*
- 11h10-11h30**      **Christian Cilas** (*UR Bioagresseurs, CIRAD Montpellier*)  
Structure du peuplement végétal et importance des attaques de deux bioagresseurs du cacaoyer (*Moniliophthora roreri* et *Phytophthora megakarya*) dans des agroforêts tropicales
- 11h30-11h50**      **Agnès Calonnec** (*UMR SAVE, INRA Bordeaux*)  
Comment des changements dans la dynamique de sensibilité d'une culture et de pratiques culturales doivent être utilisés pour mieux contrôler la propagation d'un champignon à l'échelle d'une parcelle ?
- 11h50-12h10**      **Christian Steinberg** (*UMR Agroécologie, INRA Dijon*)  
Épidémiologie de populations de *Fusarium oxysporum* et *F. dimerum* en milieu hospitaliers à Dijon et Nancy
- 12h10-12h20**      **Présentation des posters de la session** Interactions moléculaires
- 12h30              Déjeuner

**Jeudi 30 janvier – après-midi**

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

**Session 5 : INTERACTIONS MOLÉCULAIRES**

Animateurs      **Claire Veneault-Fourey** (Université de Lorraine, Nancy)  
**Harald Keller** (INRA PACA)

**17h30-18h00**      Conférencière invitée **Natalia Requena** (Karlsruhe Institute of Technology, Allemagne)

Arbuscular mycorrhizal fungi and the fine line between mutualism and parasitism

**18h00-18h20**      **Antoine Porquier** (UR BIOGER, INRA Grignon)

BOA13, un facteur de transcription qui régule la synthèse d'acide botcinique et d'autres fonctions impliquées dans la nécrotrophie

**18h20-18h40**      **Sylvain Brun** (UMR IGM, Université Paris-Sud)

Identification d'un nouvel élément du complexe Nox chez les champignons

**18h40-19h00**      **Clémence Plissonneau** (UR BIOGER, INRA Grignon)

Analyse de l'interaction entre les gènes d'avirulence *AvrLm3* et *AvrLm4-7* chez *Leptosphaeria maculans*

**19h00-19h20**      **Jean-Claude Pasquet** (UMR IBP, Université Paris-Sud)

Caractérisation fonctionnelle d'une UDP-Glucosyltransférase de *Brachypodium distachyon* impliquée dans la détoxification du déoxynivalénol et dans la résistance à *Fusarium graminearum*

19h30                  Dîner

**Vendredi 31 janvier - matin****Session 5 : INTERACTIONS MOLÉCULAIRES (suite)**

**8h30-8h50**      **Benoît Calmes** (UMR IRHS, Université d'Angers)

L'activité antifongique des isothiocyanates des Brassicaceae est liée à leur capacité à générer un stress oxydatif

**8h50-9h10**      **Élodie Gaulin** (UMR LRSV, Université Paul Sabatier, Toulouse)

Mécanismes d'action conservés chez les effecteurs CRN13 d'*Aphanomyces euteiches* oomycète parasite racinaire de légumineuses et du chytride parasite d'amphibiens *Batrachochytrium dendrobatidis*

- 9h10-9h30**            **Laetitia Chan Ho Tong** (*UMR IGM, Université Paris-Sud*)  
Vers la dépollution des amines aromatiques par les champignons
- 9h30-9h50**            **Marie-Cécile Dufour** (*UMR SAVE, INRA Bordeaux*)  
L'outil "BioMolChem" utilisé dans le vignoble pour prévoir l'état de défense et le niveau de protection de la vigne contre le mildiou après élicitation
- 9h50-10h10**          **Harald Keller** (*UMR ISA, INRA PACA*)  
La voie de signalisation des phytosulfokines chez les plantes est empruntée par différents agents pathogènes pour établir la maladie
- 10h10-10h30**        **Claire Veneault-Fourrey** (*UMR IAM, Université de Lorraine, Nancy*)  
The mutualistic fungus *Laccaria bicolor* uses the effector protein MiSSP7 to alter host jasmonate signaling and establish symbiosis
- 10h30-10h45**        **Remise des prix de la meilleure communication orale et du meilleur poster des doctorants**  
**Clôture des JJC par le Comité d'Organisation et le Président de la SFP**
- 12h00**                Déjeuner / départ des participants

# **Journées Jean Chevaugéon 2014**

## **RÉSUMÉS DES PRÉSENTATIONS ORALES**

# **Communications orales**

## ***Session 1***

### **Génétique et évolution des populations**



## **Selection and evolution of N<sub>2</sub> fixing bacterial populations**

**Gilles Béna**

Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes, IRD - UMR113, Campus de Baillarguet, Montpellier Cedex 5, France

In the frame of mutualistic association, the nitrogen fixing symbiosis between soil bacteria, commonly known as rhizobia, and legume plant, is a fascinating model. The bacterial populations involved in this symbiosis are under the influence of several selective forces, among which plant and environment are main sources. In this talk, I will present two model couples that our team has explored for the last years in terms of population evolution and genetic structure. In a first example, we analyzed the diversity associated with the plant *Medicago* genus. It includes *M. sativa* (alfalfa) and the model plant *M. truncatula*. They are associated to the two closely related bacterial species *Ensifer meliloti* and *E. medicae*. We first explored the bacterial within-population genetic diversity, and searched for selective pressures on several loci. We also analyzed the two species distribution all around the Mediterranean basin, the native geographic area of the *Medicago* genus. Our results suggested that high level of recombination in population lead to the possibility of either purifying or diversifying selection regarding loci, and that population dynamic is different between the two related species, potentially explaining their distribution. The second example will focus on the *Acacia mangium* - *Bradyrhizobium* association. *A. mangium* is a tree species originating from Australia and Papua New Guinea that has been worldwide used, since the eighties, in agroforestry for pulp production. Several symbiotic strains had been sampled in 1986 in Northern Queensland and tested as inoculants. In 2008, we went back on the same site and sampled again to compare the bacterial diversity over 20 years. We also sampled bacteria from three sites, in Malaysia, Senegal and Brazil, where *A. mangium* had been introduced, either alone and inoculated. In Australia, some genotypes were predominant and persisted over 20 years. A phylogeographic structure and isolation by distance at a global scale were demonstrated for the nodulation *nodA* symbiotic gene. We finally showed that the fate of the inoculated strains is impossible to predict, with either a persistence, a recombination with native strains or a disappearance. Inferences on inoculation protocol will be drawn from this study.

*Keywords:* nitrogen fixation, population genetic, legume

## **Identification d'effecteurs de *Melampsora larici-populina* par une approche originale : de la génomique des populations à la génomique fonctionnelle**

**A. Persoons, S. De Mita, F. Halkett, S. Duplessis**

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

L'interaction hôte-pathogène implique un dialogue moléculaire entre les partenaires, gouverné notamment par la relation gène-pour-gène. Parmi les molécules mises en jeu, les effecteurs produits par l'agent pathogène lui permettent d'interférer avec les réactions de défense de la plante, conduisant au succès de l'infection et à la maladie<sup>1</sup>. Ces effecteurs font l'objet de nombreuses recherches chez les champignons qu'ils soient pathogènes ou mutualistes. Les effecteurs mis à jour jusqu'à présent ont permis de mettre en évidence des caractéristiques communes et notamment d'en regrouper une large majorité sous le terme de PPS. Des travaux ont par ailleurs permis de montrer que certains effecteurs évoluaient sous la pression des systèmes de reconnaissance de l'hôte<sup>1</sup>. Cependant les fonctions des effecteurs restent majoritairement inconnues et leurs séquences codantes sont très variées, limitant les approches de génomique comparative. Afin de dépasser cette limitation, nous proposons de rechercher les effecteurs fongiques par une identification des loci soumis à sélection lors d'un évènement de contournement de résistance. Notre modèle d'étude est *Melampsora larici-populina*, l'agent de la rouille du peuplier, principale maladie des peupleraies européennes. Son génome est séquencé et assemblé et une recherche systématique des PPS a été réalisée<sup>2</sup>. Ainsi l'objectif de cette étude est d'identifier l'ensemble des régions génomiques impliquées dans ce contournement en utilisant une étude combinée de génétique et de génomique des populations couplée à une validation des effecteurs candidats par une approche de génomique fonctionnelle<sup>3,4</sup>. Nous avons appliqué les outils de la génétique des populations sur une collection de 600 isolats issus de populations échantillonnées en France de 1992 à 2012 et typés à l'aide de 25 marqueurs microsatellites<sup>5</sup>. Cette étude a permis de mettre en évidence trois groupes génétiques distincts dont un groupe pré-contournant aujourd'hui disparu et un groupe formé par les individus contournants. Grâce à l'analyse de la structuration génétique façonnée par cet évènement, nous avons appliqué une approche de génomique des populations, basée sur le reséquençage d'une centaine d'isolats. Les analyses en cours de scan génomique ont d'ores et déjà permis de mettre à jour des régions génomiques d'intérêt, dont certaines codent des PPS qui représentent des effecteurs candidats pour l'analyse fonctionnelle.

<sup>1</sup>Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ, 2013. *Science* 341, 746-751

<sup>2</sup>Duplessis S *et al.*, 2011. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 9166-9171.

<sup>3</sup>Luikart G, England PR *et al.*, 2003. *Nature Reviews Genetics* 4, 981-94.

<sup>4</sup>Hacquard S, Duplessis S *et al.*, 2012. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25, 279-293.

<sup>5</sup>Xhaard C, Halkett F *et al.*, 2011. *Molecular Ecology* 20, 2739-2755.

## **Étude du déterminisme génétique des traits de vie qualitatifs et quantitatifs de *Melampsora larici-populina*, agent de la rouille foliaire du peuplier**

**M. Pernaci, S. De Mita, B. Fabre, A. Andrieux, F. Halkett, P. Frey**

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

Le peuplier constitue une production importante en Europe pour le bois d'industrie et sa contribution à des filières énergétiques est en nette progression. La rouille, causée par le champignon pathogène *Melampsora larici-populina* (*Mlp*), est le principal facteur limitant la croissance du peuplier. La sélection de variétés à résistances qualitatives a conduit à des échecs répétés depuis 1980, suite au contournement de la totalité de ces résistances par l'apparition de nouveaux facteurs de virulence. La recherche de résistances plus durables a conduit les améliorateurs à prêter plus d'attention aux résistances quantitatives. Parallèlement, les pathologistes ont cherché à mesurer le potentiel évolutif du champignon sur d'autres traits d'histoire de vie (THV) du champignon en lien avec l'agressivité et/ou le potentiel de dispersion. Les approches de génétique quantitative que nous souhaitons appliquer nous permettront de déterminer si ces caractères quantitatifs sont héréditaires et impactent directement la fitness de l'espèce, caractéristiques pouvant conduire à une évolution rapide des populations du pathogène en réponse aux pressions de sélection exercées par l'hôte. La cartographie de ces caractères d'intérêt requiert la construction d'une carte génétique à haute résolution du champignon et la mesure de traits qui ségrégent dans une descendance. La maîtrise en laboratoire du cycle sexué de *Mlp* nous a permis d'adopter une stratégie de cartographie génétique par re-séquençage de 96 descendants issus d'une autofécondation de la souche 98AG31 (génomme de référence, 462 scaffolds), basée sur environ 145 000 SNPs. Les analyses préliminaires ont déjà permis de regrouper 81 scaffolds en 23 groupes de liaison. Concernant la cartographie des THV qualitatifs, seule une virulence vis-à-vis de *P. deltoides* 'L270-3' ségrége dans la descendance étudiée, ce qui en fait un THV potentiellement cartographiable. Concernant les THV quantitatifs liés à la morphologie des spores, les données brutes sur les 96 descendants montrent une ségrégation nette des traits « longueur » et « largeur » des urédospores. Les QTLs d'agressivité (latence, efficacité d'infection, sporulation, taille des lésions, quantité de mycélium) sont en cours d'acquisition et seront cartographiés s'ils présentent une ségrégation suffisante dans cette descendance.

Duplessis S *et al.*, 2011. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 9166-9171.

Huang XH *et al.*, 2009. *Genome Research* 19,1068-1076.

Lannou C, 2012. *Annual Review of Phytopathology* 50, 319-338.

*Mots-clés* : cartographie génétique, QTLs, génétique quantitative, traits d'histoire de vie, agressivité, fitness

**Aggressiveness traits, fitness and insights in their genetic basis in *Magnaporthe oryzae***

R. Gallet<sup>1,2</sup>, J. Milazzo<sup>1</sup>, C. Tertois<sup>1</sup>, H. Adreit<sup>1</sup>, F. Bonnot<sup>1</sup>, V. Ravigné<sup>1</sup>, **D. Tharreau<sup>1</sup>**,  
E. Fournier<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CIRAD, UMR BGPI, TA A 54 / K, Montpellier, France.

<sup>2</sup>INRA, UMR BGPI, TA A 54 / K, Montpellier, France.

Partial resistance is often presented as an alternative to the frequent failure of complete and specific resistance of plants to pathogens. Partial resistance is presumed to be non-specific and multigenic. On the pathogen side aggressiveness traits are presumed to be polygenic. However, experimental evidences are still limited. We thus developed some experimental work on genotype x genotype (GxG) interactions and on the genetics of aggressiveness in the rice - *Magnaporthe oryzae* pathosystem. We inoculated 18 different genotypes of the fungus *M. oryzae* on three rice plant varieties showing different levels of partial resistance. We estimated the success of each plant-fungus interaction by measuring fungal fitness (total number of spores) and three fungal life history traits: the infection success (number of lesions), within host growth (lesion size), the sporulation capacity (number of spores produced by lesion). Our results show the existence of GxG interactions on all measured traits and fungal fitness. We also observed that the varieties Ariete and CO39 have different resistance mechanisms; Ariete is good at controlling the success of infection of the parasite but is not able to control its growth when inside the leaf, while CO39 show the opposite pattern. We also found that Maratelli's resistance has been eroded. Finally, correlation analyses demonstrated that not all traits are positively correlated. In the meantime, we are searching for the genetic basis of the traits measured above. This is part of the Gandalf project. We performed a cross between two strains with contrasted trait values and obtained 158 progenies. The parents and progenies were inoculated on three rice varieties and the number of lesions, lesion size, and the number of spores per lesion were measured. The genome of all these strains is being sequenced to produce Single Nucleotide Polymorphism genotyping. A genetic map will be constructed and phenotypic data will be used to map QTLs for the three traits on the three varieties. Progresses on this work will be presented.

**La cassiicoline et le pouvoir pathogène de *Corynespora cassiicola* ; vers la mise en œuvre d'un test toxinique pour la sélection d'individus tolérants à *C. cassiicola* chez *Hevea brasiliensis***

M. Déon<sup>1,2</sup>, D. M. Tran<sup>1,5</sup>, B. Fumanal<sup>2</sup>, S. Gimenez<sup>3,4</sup>, D. Bieysse<sup>3</sup>, R. R Oliveira<sup>4</sup>, F. Breton<sup>5</sup>, A. Clément-Demange<sup>5</sup>, F. de Lamotte<sup>6</sup>, M. Seguin<sup>5</sup>, T. Leroy<sup>5</sup>, P. Roeckel-Drevet<sup>2</sup>, **V. Pujade-Renaud<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>CIRAD, UMR-AGAP, Université Blaise Pascal, laboratoire PIAF, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand cedex, France

<sup>2</sup>Université Blaise Pascal, UMR 547 PIAF, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand cedex, France.

<sup>3</sup>CIRAD, UMR BGPI, F-34398 Montpellier, France

<sup>4</sup>Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Agronomia, Maringá, Pr; CEP 8702-900, Brazil

<sup>5</sup>CIRAD, UMR AGAP, F-34398 Montpellier, France

<sup>6</sup>INRA, UMR AGAP, F-34398 Montpellier, France

La maladie CLF (« *Corynespora* Leaf Fall ») provoquée par le champignon ascomycète *Corynespora cassiicola* (classe des Dothideomycetes<sup>1</sup>) est devenue depuis une cinquantaine d'année la principale pathologie foliaire de l'hévéa (*Hevea brasiliensis*) en Asie et en Afrique. L'hévéa est l'unique source commerciale de caoutchouc naturel dans le monde, avec 92 % de la production mondiale provenant d'Asie et 5 % d'Afrique. *C. cassiicola* représente donc un handicap majeur pour la filière caoutchouc. Une petite glycoprotéine sécrétée par *C. cassiicola*, nommée cassiicoline, a été identifiée comme étant un effecteur de maladie important pour l'hévéa. Une étude de la structure et de la diversité de cette toxine a été entreprise, afin d'avoir une meilleure compréhension du pouvoir pathogène de *C. cassiicola*. Nous décrirons dans un premier temps la purification et la caractérisation moléculaire de la cassiicoline à partir d'une souche pathogène provenant des Philippines<sup>2,3,4</sup>. Ensuite, nous présenterons une étude de la diversité du gène de cassiicoline au sein d'une collection de souches d'origines géographiques et d'hôtes variés<sup>4,5</sup>. Cette étude a révélé l'existence d'au moins six isoformes de cassiicoline, permettant de grouper les souches en classes toxiniques. Une analyse phylogénétique de la collection des souches de *C. cassiicola* sur la base de 4 locus combinés a permis de mettre en évidence une importante diversité au sein de l'espèce *C. cassiicola*, en relative concordance avec les classes toxiniques. Les souches porteuses de l'isoforme de cassiicoline Cas1 semblent être les plus agressives chez l'hévéa. Cependant, certaines souches dépourvues de gène de cassiicoline présentent néanmoins un niveau de virulence faible à moyen chez l'hévéa, ce qui suggère l'existence d'autres effecteurs que la cassiicoline. Un test de la sensibilité des cultivars d'hévéa à *C. cassiicola* basé sur la sensibilité aux toxines sécrétées par le champignon (en particulier Cas1) est en cours de validation. Il permettra le phénotypage de deux descendances pour la sélection d'individus tolérants. L'analyse comparative du déterminisme de la tolérance de l'hévéa aux toxines purifiées d'une part et au champignon d'autre part permettra de mieux comprendre le rôle de ces toxines dans la maladie CLF chez l'hévéa.

<sup>1</sup>Schoch CL *et al.*, 2009. *Studies in Mycology* 64, 1-15-S10.

<sup>2</sup>Barthe P *et al.*, 2007. *Journal of Molecular Biology* 367, 89-101

<sup>3</sup>de Lamotte F *et al.*, 2007. *Journal of Chromatography B*. 849, 357-362.

<sup>4</sup>Déon M *et al.*, 2012a. *Plant Science* 185-186, 227-237. <sup>5</sup>Déon M *et al.*, 2012b. *Fungal Diversity* 54, 87-99.

*Mots-clés* : *Corynespora cassiicola*, *Hevea brasiliensis*, cassiicoline, effecteur de maladie, diversité, phylogénie, test toxinique

## **Génomique évolutive de l'agent pathogène de la tavelure du pommier, *Venturia inaequalis*, dans le cadre de la domestication de son hôte**

**M. de Gracia<sup>1,2,3</sup>, T. Leroy<sup>1,2,3</sup>, M. Sannier<sup>1,2,3</sup>, B. Le Cam<sup>1,2,3</sup>, C. Lemaire<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>IRHS / INRA, Equipe EcoFun (Écologie Évolutive des Champignons), 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé

<sup>2</sup>IRHS / Université d'Angers, 2 bd Lavoisier, 49045 Angers

<sup>3</sup>IRHS/ Agrocampus-Ouest, 2 rue André le Notre, 49045 Angers

La domestication des espèces animales et végétales peut être considérée comme un processus évolutif considérable dirigé par l'Homme. Les processus de domestication ont provoqué de nombreux changements phénotypiques et génétiques. Cependant l'impact de ces nombreux changements adaptatifs sur les populations de pathogènes infectant les hôtes domestiqués reste encore à définir. En particulier, quelles sont les conséquences du passage d'un milieu sauvage caractérisé par une grande hétérogénéité d'hôtes à des agro-écosystèmes bien plus homogènes et denses ? En d'autres termes, existe-t-il un syndrome de domestication chez les pathogènes ? *Venturia inaequalis*, l'agent pathogène de la tavelure, provient du même centre d'origine que son hôte, en Asie Centrale<sup>1</sup>. Deux populations échantillonnées au Kazakhstan, l'une qualifiée de population «domestique» provenant des plaines (CAP : Central Asia Plains), l'autre qualifiée d'«ancestrale» provenant des montagnes kazakhes (CAM : Central Asia Montains) ont précédemment été identifiées. L'analyse génétique et phénotypique de ces deux populations montrent qu'elles se sont reproductivement isolées et que la domestication du pommier a profondément modifié le pouvoir pathogène du champignon<sup>2</sup> ainsi que certains caractères liés à la dispersion (*cf* poster 1.2). Afin d'identifier les régions du génome impactés par la domestication et comprendre les mécanismes impliqués dans cet isolement reproducteur, nous avons séquencé 40 souches de *V. inaequalis* (illumina Hiseq 2000 - couverture 2\*50 pairs ends / Taille génome après assemblage  $\approx$  40 Mb, N50  $\approx$  40 Kb). Nos premiers résultats favorisent l'hypothèse d'une remise en contact secondaire récente après une divergence lors de la domestication du pommier il y a environ 5000 ans. Nous présentons ici nos premiers résultats sur l'analyse génomique de la divergence entre les deux populations CAP et CAM. Ces analyses permettent d'ores et déjà d'identifier certaines régions génomiques potentiellement impliquées dans des modifications des traits d'histoire de vie, et dans des barrières géniques, en lien avec la domestication du pommier.

<sup>1</sup>Gladieux P *et al.*, 2008. *PLoS ONE* 3 (1): e1455

<sup>2</sup>Lê Van A *et al.*, 2012. *Evolutionary Applications* doi:10.1111/j.1752-4571.2012.00246.x

*Mots-clés* : émergence, *Venturia inaequalis*, domestication, Kazakhstan, génomique comparative

**Identification, variability and *in planta* expression of pathogenicity effectors of *Plasmopara halstedii*, the oomycete responsible for sunflower (*Helianthus annuus*) downy mildew**

**Q. Gascuel**, M. Bernard, N. Pouilly, N. Blanchet, M.-C. Boniface, P. Vincourt\*, L. Godiard\*

Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR441, INRA-CNRS, F-31326 Castanet-Tolosan, France. \* Co-last authors.

Downy mildew in sunflower is caused by the obligate biotroph oomycete *Plasmopara halstedii*. The pathotypes of this pathogen are defined by their divergent virulence profiles in a set of sunflower differential hosts carrying different *Pl* resistance genes; the number of pathotypes increased to 14 during the last 20 years in France, concomitantly with the breakdown of *Pl* resistance loci used in the fields. Studying variability of pathogen molecular determinants is a prerequisite for deciphering plant sustainable resistance. Sequencing of cDNA from spores and sunflower infected tissues resulted in the identification of 20 RXLR and CRN type effectors from *P. halstedii* expressed in sunflower infected tissues (As-Sadi *et al*, 2011). Transcriptomic data were further complemented with Illumina genomic sequencing of 7 *P. halstedii* pathotypes. A deeper PSI-BLAST analysis was performed on transcriptomic data and validated on genome drafts in order to identify more putative effector genes, and to look at their polymorphism in *P. halstedii* pathotypes. Among 54 genes assigned manually as putative effectors, 36 cumulated 29 synonymous mutations and 58 non-synonymous. Genetic polymorphism in the group of putative effector genes was compared to the one of 125 *P. halstedii* random genes selected as non-effector genes. Our results indicate that effector genes and more particularly CRN have a higher proportion of non synonymous mutations than random genes, suggesting that effectors and non-effector genes are not subjected to the same evolutionary forces.

Polymorphic effectors were used to design a set of markers in order to discriminate *P. halstedii* pathotypes by easy PCR-based molecular tests. We first genotyped the 14 reference isolates of *P. halstedii* with 23 non redundant KASP markers designed on putative effector genes. The genotyping was thereafter extended to 21 geographical isolates from France belonging to the 14 *P. halstedii* pathotypes. Genotyping results highlight several *P. halstedii* markers showing no intra-pathotype polymorphism named “homogeneous markers”. We propose a determination key to distinguish 12/14 pathotypes based on 8 homogeneous markers. These markers which might play a role in virulence profile of *P. halstedii* pathotypes could be used in the pathotype identification of field isolates and would be a complementary method to soil phenotypic tests, improving disease monitoring. In parallel, transient expression of effectors fused to GFP is currently done in sunflower to study their functional role *in planta*.

*Key words:* *Plasmopara halstedii*, *Helianthus annuus*, effector polymorphism, oomycete, virulence, KASP

# **Communications orales**

## ***Session 2***

### **Génomique des champignons**



**La vie en bleu : génomique fonctionnelle et écologie des interactions algues - agents pathogènes**

**Claire Gachon**

The Scottish Association for Marine Science, Scottish Marine Institute, Oban, Argyll PA37 1QA, Royaume-Uni

Mon groupe s'intéresse à la biologie et à l'écologie des interactions hôte-pathogène chez les algues, notamment en milieu marin. En particulier, nous avons établi un pathosystème entre l'algue brune modèle *Ectocarpus siliculosus* et l'oomycète *Eurychasma dicksonii*; ce modèle présente de nombreux avantages expérimentaux, au carrefour entre l'écologie et la génomique comparative. Dans un premier temps, je démontrerai l'existence de réactions de défenses chez les algues brunes conduisant à l'incompatibilité, dont le mécanisme est très comparable à la réaction hypersensible des angiospermes. Je présenterai ensuite quelques données sur les mécanismes potentiels de reconnaissance des agents pathogènes chez les algues brunes, dans le contexte plus large de l'évolution des systèmes immunitaires eucaryotes. Enfin, je présenterai de nouvelles données moléculaires sur *Eurychasma dicksonii*, dont la position phylogénétique basale et la biologie (par ex. biotrophie obligatoire) sont particulièrement pertinents pour la compréhension de l'évolution des oomycètes.

## Characterization of molecular mechanisms underlying the multi-drug-resistant phenotypes of *Mycosphaerella graminicola* field isolates

S. Omrane<sup>1</sup>, H. Sghyer<sup>1</sup>, C. Lanen<sup>1</sup>, L. Aouini<sup>2</sup>, G. Kema<sup>2</sup>, A.-S. Walker<sup>1</sup>, S. Fillinger<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UR BIOGER-CPP, INRA, Avenue Lucien Brétignières, F78850 Thiverval-Grignon, France

<sup>2</sup>Plant Research International, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands

Multidrug resistance (MDR) is a common trait developed by many organisms to counteract chemicals and/or drugs used against them. The basic MDR mechanism is relying on an overexpressed efflux transport system that actively expulses the toxic agent outside the cell. In fungi, MDR has been extensively studied in *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida albicans*, but also plant pathogenic fungi are concerned by this phenomenon. In this study, we confirmed a drug efflux based resistance mechanism in two isolates of the septoria leaf blotch agent *Mycosphaerella graminicola*. Using next generation sequencing approaches, we could demonstrate that the *MgMFS1* gene encoding a membrane transporter of the major-facilitator-superfamily was strongly overexpressed in both isolates. The mutation(s) responsible for the MDR phenotype was/were mapped by a bulk-progeny-sequencing approach to a 38.5 kb genomic fragment on chromosome VII, covering also the *MgMFS1* gene. Inactivation of the *MgMFS1* gene the MDR6 strain abolished the MDR phenotype showing the involvement of this transporter in drug resistance. However fine mapping is necessary to identify the *mdr* mutation(s) leading to *MgMFS1* overexpression.

**Transcriptome analyses during basidiocarp formation in the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus microcarpus***

**M. de Freitas Pereira<sup>1,2</sup>, T. Cardoso Anastácio<sup>2</sup>, M. Dutra Costa<sup>2</sup>, F. Martin<sup>1</sup>, A. Kohler<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Microbiologia, Campus Universitário, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, Brazil

<sup>2</sup>Institut National de la Recherche Agronomique, Unité Mixte de Recherche 1136, Interactions Arbres/Microorganismes, Centre de Nancy, Université de Lorraine, 54280 Champenoux, France

The basidiomycete fungus *Pisolithus microcarpus* is a gasteromycete of wide distribution in eucalypt plantations worldwide. This fungus produces a complex basidiocarp composed of peridioles at different developmental stages<sup>1,2</sup>. Inside the basidiocarps, a large number of spores is produced that can be routinely used for seedling inoculation in eucalypt nurseries. The use of ectomycorrhizal fungi in eucalypt nurseries is paramount for achieving sustainable forestry production. However, the basidiopore germination rates are extremely low and the capacity to form ectomycorrhizas will depend on the genetic background of monokaryons originated from the basidiospores<sup>3</sup>. Despite the progress achieved in the understanding of basidiosporogenesis in this species, nothing is known about the transcriptional patterns that occur along basidiocarp development and the identity of the RNA molecules stored inside the basidiospores soon after basidiosporogenesis. Taking advantage of the recently sequenced *P. microcarpus* genome and by using RNA-Seq technology we analyzed the transcriptome of three distinct compartments of the *P. microcarpus* basidiocarp: unconsolidated and mature peridioles as well as mature spores. More than 500 transcripts were differently expressed in unconsolidated and mature peridioles compared to mature spores. Genes coding for enzymes of the fatty acid metabolism, hydrophobins and other small, secreted proteins, probably involved in the formation of hyphal aggregates, were highly up-regulated in unconsolidated and mature peridioles. In mature spores, genes coding for stress-related proteins like heat-shock or thaumatin-like proteins were found highly expressed. A detailed comparison of the three compartments will be presented. These results will be important for the understanding of *Pisolithus* biology and ecology and for its use in forestry production.

<sup>1</sup>Campos ANR, Costa MD, 2010a. *Fungal Genetics and Biology* 47, 477-483.

<sup>2</sup>Campos ANR, Costa MD, 2010b. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26, 1745–1753.

<sup>3</sup>Campos ANR et al., 2008. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 32, 1531-1540.

*Mots-clés* : *Pisolithus microcarpus*, basidiocarp development, transcriptomics

## Trojan horse strategy and fair trade among symbioses: how one fungal species can invade thousands of plant species with their agreement?

M. Malbreil<sup>1</sup>, P. M. Delaux<sup>2</sup>, H. San-Clemente<sup>1</sup>, N. Ladouce<sup>1</sup>, N. Marsaud<sup>3</sup>, J. M. Ané<sup>2</sup>, G. Bécard<sup>1</sup>, C. Roux<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR5546 CNRS-Université de Toulouse, Laboratoire de Recherche en Science Végétale, 24 Chemin de Bordé Rouge, 31326 Castanet-Tolosan, France

<sup>2</sup>Department of Agronomy, University of Wisconsin, 1575 Linden Drive, Madison, WI 53706, United States of America

<sup>3</sup>Plateforme Génomique, Campus INRA 24 Chemin de Borde-Rouge, F-31326, Castanet-Tolosan Cedex, France

Arbuscular Mycorrhizal (AM) symbiosis, the oldest mutualistic plant-fungal symbiosis, involves 80% of land plants. AM fungi (Glomeromycota), including the model species *Rhizophagus irregularis*, can indeed associate with non-vascular plants (liverworts, hornworts), early diverging vascular plants (ferns) or seed plants. Following the presymbiotic molecular dialog, the mycelium invades roots - or thallus - and grows in the cortical - or parenchymal - tissues where it develops intercellular highly branched hyphae - *arbuscules* – allowing bidirectional nutrient exchanges. Water, Nitrogen and Phosphorus, delivered by the fungus, are recruited by a broad network of extraradical mycelium (ERM), which spreads in the soil concomitantly to the root invasion. Nutrients are efficiently taken up by high and low affinity transporters, and translocated to the Intra Radical Mycelium (IRM) where their will be traded in arbuscules against hexoses. Recently, the genome and transcriptome of the AM fungal model species *R. irregularis* were released<sup>1,2</sup>, allowing the study of the fungal processes involved in the establishment of the AM symbiosis. Their unusual broad host spectrum (each AM fungal species has the ability to invade all mycotrophic plant species), implying different tissues to colonize (either thallus or true roots) is particularly intriguing and addressed here. We took advantage of Next Generation Sequencing to analyze the fungal transcriptome in three host species (one liverwort and two flowering plants, a legume and a grass). Comparing IRM/ERM gene expression, we defined a set of specifically or highly up-regulated genes shared in the different interactions that can be considered as the common fungal symbiotic toolkit. It includes nutrient transporters, metabolic genes and a panel of secreted proteins potentially involved in host manipulation. A part of those symbiosis-specific genes has been chosen for qPCR validation in an extended number of hosts, covering the green lineage. It will give the first glimpse of the gene set involved in symbiosis establishment regardless of the host colonized.

<sup>1</sup><http://genome.jgi.doe.gov/Gloin1/Gloin1.home.html>

<sup>2</sup>Tisserant E *et al.*, 2012. *New Phytologist* 193, 755–69.

*Mots-clés:* *Rhizophagus irregularis*, arbuscular mycorrhizal fungi, symbiotic physiology, effectors

## Implication d'un contrôle épigénétique dans l'expression des gènes codant des effecteurs chez *Leptosphaeria maculans*, champignon pathogène du colza

J. L. Soyer<sup>1</sup>, M. El Ghalid<sup>1</sup>, B. Ollivier<sup>1</sup>, J. Linglin<sup>1</sup>, L. R. Connolly<sup>2</sup>, M. Freitag<sup>2</sup>, T. Rouxel<sup>1</sup>,  
**I. Fudal<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> INRA, UR BIOGER-CPP, Av. Lucien Brétignières 78850 Thiverval-Grignon France

<sup>2</sup> Department of Biochemistry and Biophysics, Center for Genome Research and Biocomputing, Oregon State University Corvallis OR 97331-7305 USA

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 à faible taux de GC, s'apparentant à de l'hétérochromatine (régions génomiques riches en éléments transposables, pauvres en gènes et présentant un faible taux de recombinaison) et enrichies en gènes codant des effecteurs (isochores AT). Les gènes codant des effecteurs situés en isochores AT présentent un comportement transcriptionnel différent de ceux localisés en isochores GC : une faible expression pendant la croissance mycélienne et une forte induction d'expression pendant l'infection primaire du colza<sup>1</sup>. Cette cinétique d'expression commune suggère un rôle de la structure chromatinienne des isochores AT dans le contrôle de l'expression des gènes codant des effecteurs. Afin de déterminer le rôle de la structure des isochores AT sur l'expression des gènes codant des effecteurs, nous avons réalisé le « silencing » de gènes codant des protéines clés décrites comme impliquées dans le remodelage de la chromatine : deux protéines indispensables à la formation de la structure hétérochromatinienne (HP1 et DIM-5) et une protéine impliquée chez *Neurospora crassa* dans la prévention de la propagation anarchique de l'hétérochromatine (DMM-1)<sup>2</sup>. Leur implication dans le cycle de vie du champignon, dans la condensation de la chromatine et la méthylation des histones, et enfin dans la régulation de l'ensemble des gènes prédits dans le génome de *L. maculans* a été évaluée. Cette étude a permis de démontrer que la localisation des gènes en isochores AT, en particulier ceux codant des effecteurs, a un impact majeur sur leur expression : la structure condensée de la chromatine dans les isochores AT, liée à une triméthylation des histones (H3K9), en particulier au niveau des promoteurs, contribue à une répression de l'expression des gènes lors des phases de croissance végétative. Le passage à la pathogenèse se traduirait par une décondensation de la chromatine, dont le déterminisme est inconnu, rendant les promoteurs accessibles aux facteurs de transcription. Nous avons également observé qu'en plus des gènes localisés en isochores AT, des zones en isochores GC étaient également affectées et pouvaient constituer des « points chauds » de contrôle épigénétique et héberger des gènes impliqués dans la pathogenie.

:

<sup>1</sup>Rouxel T *et al.*, 2011. *Nature Communications* 2, 202.

<sup>2</sup>Honda S *et al.*, 2010. *Genes and Development* 5, 443-4544.

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

## Spécificité d'expression des effecteurs candidats de l'agent de la rouille foliaire *Melampsora larici-populina* chez ses deux hôtes, le mélèze et le peuplier

B. Petre<sup>\*</sup>, S. Hacquard<sup>†</sup>, A. Persoons, C. Delaruelle, J. Petrowski, P. Frey, S. Duplessis

UMR 1136 INRA/Université de Lorraine Interactions Arbres/Microorganismes, Centre INRA Nancy Lorraine, 54280 Champenoux, France

<sup>\*</sup> adresse actuelle, The Sainsbury Laboratory, Norwich Research Park, Norwich, Royaume Uni

<sup>†</sup> adresse actuelle, Max Planck Institute for plant breeding research, Cologne, Allemagne

*Melampsora larici-populina* (Basidiomycète, Pucciniales) est le principal agent responsable de la maladie de la rouille foliaire du peuplier. Ce champignon présente la particularité de réaliser un cycle biologique complexe dit macrocyclique et hétéroïque, marqué par la production de cinq formes différentes de spores sur deux hôtes : le mélèze (phase de reproduction sexuée) et le peuplier (phase de reproduction asexuée)<sup>1</sup>. La phase asexuée du cycle biologique de *M. larici-populina* conduit aux épidémies en plantations de peuplier. Comme chez d'autres agents des rouilles, cette phase de reproduction asexuée a été relativement bien étudiée et caractérisée. À l'inverse, nous disposons de très peu d'informations sur le reste du cycle. Notamment, la capacité d'infecter deux hôtes taxonomiquement éloignés pose de nombreuses questions sur les bases moléculaires de l'interaction entre le champignon et ses hôtes. Suite au séquençage du génome de l'isolat 98AG31 de *M. larici-populina*<sup>2</sup>, l'annotation du sécrétome a permis de révéler un large répertoire de près de 1200 gènes codant des petites protéines sécrétées (PPS) qui représentent des effecteurs candidats du champignon<sup>3</sup>. Une analyse transcriptomique sur puces à oligonucléotides a permis de dresser les profils d'expression des PPS au cours du processus infectieux chez le peuplier<sup>4</sup>. Nous présentons ici l'analyse transcriptomique par RNA-Seq (Illumina) de trois structures associées à la phase d'infection et de reproduction sur mélèze : basides, spermogonies et écidies. Ces dernières ont été obtenues à partir d'un système original d'infection contrôlée au laboratoire avec l'isolat de référence 98AG31. Près de 300 millions de séquences ont pu être générées pour chacune de ces conditions (trois réplicats biologiques) et ont permis de dresser des profils d'expression spécifiques à l'infection de l'hôte mélèze. La comparaison avec les profils précédemment obtenus chez le peuplier nous permet de montrer la spécificité d'expression de sets distincts d'effecteurs candidats chez les deux hôtes. Les profils d'autres classes de gènes impliqués dans la colonisation des deux hôtes, comme les CAZymes (carbohydrate-active enzymes), seront aussi détaillés.

<sup>1</sup>Frey P, Pinon J, 2004. *Biofutur* 23, 28-32.

<sup>2</sup>Duplessis S *et al.*, 2011. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 9166-9171.

<sup>3</sup>Hacquard S, Duplessis S *et al.*, 2012. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25, 279-293.

<sup>4</sup>Duplessis S, Hacquard S *et al.*, 2011. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 24, 808-818.

## Génomique de l'adaptation à l'hôte chez le champignon phytopathogène *Microbotryum violaceum*

H. Badouin<sup>1</sup>, J. Gouzy<sup>2</sup>, A. Snirc<sup>1</sup>, A. Branca<sup>1</sup>, T. Giraud<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Écologie, Systématique et Évolution, UMR 8079 Université Paris Sud, CNRS, Orsay Cedex, France

<sup>2</sup>Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR INRA/CNRS 441/2594, Castanet-Tolosan F-31326, France

Comprendre les bases de l'adaptation des espèces à leur environnement est une question cruciale en biologie évolutive. Un des buts majeurs des biologistes évolutifs est d'identifier les bases génétiques de l'adaptation à un environnement particulier, c'est-à-dire d'identifier les gènes responsables, mais aussi leur nombre et leur répartition dans les génomes. Une des stratégies pour étudier les bases génétiques de l'adaptation est d'étudier les variations génétiques au sein des populations, notamment pour identifier des signatures de sélection naturelle. Les pathogènes sont de très bons modèles pour étudier l'adaptation, car l'hôte constitue un très fort facteur biotique de sélection, qui peut entraîner des phénomènes de différenciation, voire de spéciation très rapide, en particulier suite à un changement d'hôte<sup>1</sup>. *Microbotryum violaceum* constitue un complexe de champignon basidiomycète parasitant plus d'une centaine d'espèces de la famille des Caryophyllacées<sup>2,3</sup>. Ce complexe est caractérisé par un fort degré de spécialisation à l'hôte<sup>4</sup>, des spéciations par sauts d'hôtes<sup>5</sup>, et la présence de rares hybrides dans la nature<sup>6</sup>. L'analyse de séquences d'EST a révélé des gènes potentiellement sous sélection positive entre espèces spécialisées sur des hôtes plantes différentes<sup>7,8</sup>. Cependant, les gènes responsables de la spécialisation à l'hôte restent largement inconnus. Tirant parti du récent séquençage du génome de *M. lychnidis-dioicae*, nous avons re-séquéncé les génomes de plusieurs dizaines d'individus appartenant à cette espèce et à son espèce sœur, *M. silenes-dioicae*. Nous avons identifié des milliers de sites polymorphes, et nous réalisons des scans génomiques à l'aide d'indices statistiques comme le  $F_{ST}$ , le  $D$  de Tajima et le  $Z$  de Zheng, et des tests de sélection comme le HKA et le Mac Donald Kreitman. Un des buts de cette étude est d'identifier les gènes sous sélection positive à l'intérieur de chaque espèce, possiblement impliqués dans la coévolution, ainsi que les gènes sous sélection diversifiante entre espèces, ayant un rôle dans la spécialisation. Un autre but est de déterminer si certaines régions du génome sont davantage introgressées que d'autres entre espèces et si cela est dû à une sélection (positive ou négative) et/ou une architecture génomique particulière, comme des inversions chromosomiques ou des centromères.

<sup>1</sup>Giraud T, Gladieux P, Gavrillets S. 2010. *Trends in Ecology & Evolution* 25, 387–395.

<sup>2</sup>Mena-Ali JI *et al.*, 2008. *Phytopathology* 98, S208–S208.

<sup>3</sup>Hood ME *et al.*, 2010. *New Phytologist* 187, 217–229.

<sup>4</sup>Refrégier G *et al.*, 2008. *BMC Evolutionary Biology* 8, 100.

<sup>5</sup>Le Gac M *et al.*, 2007. *Evolution* 61, 15–26.

<sup>6</sup>Gladieux P *et al.*, 2011. *Molecular and Biological Evolution* 28, 459–471.

<sup>7</sup>Aguileta G *et al.*, 2010. *Molecular Ecology* 19, 292–306.

<sup>8</sup>Gladieux P *et al.*, 2013. *Infection, Genetics and Evolution* 17, 123–131.

*Mots-clés* : génomique des populations, adaptation, sauts d'hôtes, scan génomique, hybridation

# **Communications orales**

## ***Session 3***

### **Mycologie générale (taxonomie, écologie et évolution)**



## **Plant root symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi: patterns of diversity from global to local scales**

**M. Öpik**

Department of Botany, Université de Tartu, 40 Lai Str., 51005 Tartu, Estonie

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF, Phylum Glomeromycota) are soil and root-dwelling, obligate plant root symbiotic organisms present in most terrestrial environments. Their occurrence and diversity have important roles in plant nutrition, abiotic and biotic stress (incl. pathogen) resistance and soil quality, and in diversity and functioning of host plant communities and nutrient cycling of ecosystems. Therefore, understanding the taxonomic and functional diversity of AMF is the topic of increasing importance. Diversity of AMF is commonly measured using DNA sequences of nuclear ribosomal operon markers; the most frequently used one being the SSU rRNA gene. Total AMF molecular operational taxonomic unit (MOTU) richness of SSU rRNA gene sequences suggests at least twice as high number of species present as is currently known on the basis of morphotaxonomy<sup>1</sup>. These MOTUs have been organised into a common system of “virtual taxa” (VT) in a public database MaarjAM (<http://maarjam.botany.ut.ee><sup>2</sup>). VT are delimited as phylogenetically related clades of sequences of SSU rRNA gene; they are aimed to correspond to species level taxa. The MaarjAM database collects and systematizes sequences and meta-data from published ecological and taxonomic works. VT system allows synonymisation of original MOTU designations by providing a stable name. The stability of VT nomenclature is created via type sequences. VT nomenclature, much alike binomial taxonomic nomenclature, allows comparability among data and consistent communication among scientists. The MaarjAM database contains sequences of multiple markers, such as fungal barcoding marker ITS, LSU rRNA gene and others. Application of the VT nomenclature has allowed description of AMF diversity patterns from global to local scales. There is evidence at the global (biogeographic) scale that AMF communities differ among biomes and climatic zones<sup>2,3,4</sup>. At the local scale, host ecological group related, as well as seasonal temporal patterns are apparent in root-colonising AMF community composition<sup>5,6</sup>. Comparison of root- and soil-dwelling AMF has provided intriguing results: there can be more AMF VT colonising root than soil environment of a locality<sup>7</sup>. Further studies are to show the robustness of these patterns, as well as illuminate the functional mechanisms of both the AM fungi and host plants that may be behind these patterns.

<sup>1</sup>Öpik M *et al.*, 2014. *Botany* DOI: 10.1139/cjb-2013-0110.

<sup>2</sup>Öpik M *et al.*, 2010. *New Phytologist* 188, 223-241.

<sup>3</sup>Öpik M *et al.*, 2006. *Journal of Ecology* 94, 778-790.

<sup>4</sup>Öpik M *et al.*, 2013. *Mycorrhiza* 23, 411-430.

<sup>5</sup>Öpik M *et al.*, 2009. *New Phytologist* 184, 424-437.

<sup>6</sup>Bennett, AE *et al.*, 2013. *PloS ONE* 8, e83241.

<sup>7</sup>Saks Ü *et al.*, 2014. *Botany* DOI: 10.1139/cjb-2013-0058.

*Keywords:* arbuscular mycorrhiza, biodiversity, community patterns, DNA-based identification, biogeography, database

**Changements à court terme de la composition des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules et des populations de *Rhizophagus irregularis* en fonction des pratiques culturales**

**M. Peyret-Guzzon, H. Stockinger, M.-L. Bouffaud, D. Redecker**

UMR Agroécologie/INRA/Université de Bourgogne/ERL6300CNRS, Pôle Interactions Plantes Micro-organismes BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon cedex, France.

La mycorhize à arbuscule a un important potentiel d'amélioration de la nutrition minérale des plantes, fort utile dans le contexte agricole. Cependant, certaines pratiques culturales sont connues pour avoir un effet néfaste sur la diversité des champignons mycorhiziens à arbuscules (Glomeromycètes). Il est donc nécessaire de mieux comprendre les dynamiques de leurs communautés et populations pour pouvoir préserver et gérer le potentiel symbiotique. Dans cette étude, nous avons étudié les effets séparés et conjoints du retournement du sol et des fertilisations phosphatée et azotée du sol sur la structure des communautés des Glomeromycètes et sur les populations de l'espèce *Rhizophagus irregularis* au sein d'une bande enherbée située dans un paysage dominé par des champs arables. Des plantules de *Plantago lanceolata* ont été réimplantées dans les parcelles expérimentales. Les espèces de Glomérromycètes présentes dans leurs racines ont été analysées à l'aide du séquençage à haut débit d'une région du gène *rpb1*. La diversité intraspécifique de l'espèce *R. irregularis* a été étudiée à partir de la grande sous-unité de l'ARN ribosomique mitochondrial. Nous avons observé un changement de proportions de différents taxons que ce soit au niveau de l'espèce, du genre ou de la famille selon les traitements. Le retournement du sol seul et/ou en combinaison avec les fertilisations favorise l'occurrence de certains taxons tandis qu'il en désavantage d'autres et les traitements de fertilisation qu'elle soit azotée ou/et phosphatée ont rarement d'effet seuls. Au niveau populationnel, le remplacement attendu des génotypes de type prairie par les génotypes de type culture ne semble être que partiel. Ainsi, le retournement du sol, et donc du réseau hyphal en place, est un facteur majeur de la structuration à court terme des communautés de Glomérromycètes et des populations de *R. irregularis*, bien qu'il semble modulé par la fertilisation du sol. En conclusion, cette étude est la première étude alliant l'échelle populationnelle et l'échelle des communautés dans une bande enherbée lors d'une expérience à court terme. Elle fournit des informations utiles quant à l'influence des facteurs environnementaux à ces deux niveaux et met en évidence l'importance d'étudier séparément et conjointement les différentes composantes des pratiques culturales actuelles afin de pouvoir, à long terme, optimiser les services écosystémiques des Glomérromycètes.

*Mots-clés* : Glomeromycètes, communauté, *Rhizophagus irregularis*, populations, séquençage haut débit, RFLP, *rpb1*, mtLSU, pratique culturales, fertilisation, bande enherbée

## **Diversité des communautés ectomycorhiziennes dans une forêt tropicale à Madagascar ; application à la restauration écologique d'un site minier**

**C. Henry<sup>1</sup>, J.-F. Raivoarisoa<sup>2</sup>, M. Ducouso<sup>3</sup>, M.-A. Selosse<sup>4</sup>, H. Ramanankierana<sup>5</sup>, P. Andrianaivomahefa<sup>2</sup>, R. Duponnois<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>AgroParisTech, Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes, IRD/INRA/CIRAD/Montpellier SupAgro/ Université Montpellier II, TA A-82/J, F-34398, Montpellier Cedex 5, France

<sup>2</sup>Ambatovy, Immeuble Tranofitaratra 7<sup>e</sup> étage, rue Ravoninahitriariavo, Ankorondrano, Antananarivo 101, Madagascar

<sup>3</sup>CIRAD, Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes, IRD/INRA/CIRAD/Montpellier SupAgro/ Université Montpellier II, TA A-82/J, F-34398, Montpellier Cedex 5, France

<sup>4</sup>MNHN, Origine, Structure et Evolution de la Biodiversité, UMR 7205, Muséum, Paris, France

<sup>5</sup>Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement, Centre National de Recherches sur l'Environnement, BP 1739, Antananarivo, Madagascar

<sup>6</sup>IRD, Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes, IRD/INRA/CIRAD/Montpellier SupAgro/ Université Montpellier II, TA A-82/J, F-34398, Montpellier Cedex 5, France

Le projet minier d'Ambatovy à Madagascar exploite le nickel et le cobalt dans une mine à ciel ouvert de près de 2000 ha en forêt tropicale humide d'altitude, et pose des défis de réhabilitations forestières. Cinq espèces de ligneux ectomycorhiziens semblent structurer les forêts naturelles avant l'exploitation: *Rhodolaena* sp., *Uapaca* sp., *Leptolaena* sp., *Asteropeia* sp. et *Sarcolaena* sp. (identification spécifique précise des espèces en cours). Parmi elles, *Asteropeia* sp. est capable de se régénérer spontanément en milieu dégradé. L'identification par l'ITS des partenaires fongiques des mycorhizes prélevées après traçage racinaire a mis en évidence une grande richesse spécifique des communautés ectomycorhiziennes associées à ces cinq espèces. Les 457 échantillons de mycorhizes analysés se partagent en 154 OTUs pour une richesse totale estimée à 300 OTUs. Les communautés sont dominées par les Russulaceae et les Boletaceae. Les Thelephoraceae, Cortinariaceae, Sclerodermataceae et Sebacinaceae y sont moins abondants. Il n'y a d'effet ni de l'espèce, ni de l'âge de la plante hôte sur la composition des communautés mycorhiziennes. On a donc un fort partage des communautés mycorhiziennes entre les cinq espèces de plante hôte testées ainsi qu'entre les semis et les adultes. L'*Asteropeia* pourrait donc être utilisé comme plante accompagnatrice lors de la restauration écologique du site, car son introduction pré-cultiverait dans le sol remis en place des espèces fongiques capables de coloniser les autres espèces ligneuses structurantes de l'écosystème.

*Mots-clés* : ectomycorhize, Madagascar, restauration écologique, partage des communautés, *Asteropeia*

## **L'utilisation de la PCR en temps réel pour la traçabilité des champignons comestibles ectomycorhiziens**

**H. de la Varga**<sup>1</sup>, X. Parladé<sup>2</sup>, J. Pera<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), UMR1136 INRA/Université de Lorraine, "Interactions Arbres/Micro-organismes", Lab of Excellence ARBRE, INRA Nancy, 54280 Champenoux, France

<sup>2</sup>Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentària (IRTA). Centre de Cabrils. Programa de Protecció vegetal sostenible. Subprograma de Patologia Vegetal. Ctra. Cabrils Km. 2, E-08348 Cabrils, Barcelona, Espagne.

Le suivi de la plupart des champignons comestibles ectomycorhiziens dépend uniquement de l'observation de leurs fructifications naturelles. La formation des sporocarpes des champignons est liée aux caractéristiques de l'habitat et aux conditions climatiques, mais ces données ne suffisent pas à expliquer toutes les tendances de fructifications. Les progrès des nouvelles technologies de biologie moléculaire ont conduit à la mise au point et à l'utilisation de techniques pour la traçabilité des champignons comestibles ectomycorhiziens dans l'environnement. L'objectif de cette étude est de développer des outils de PCR en temps réel pour quantifier le mycélium de champignons comestibles dans le sol afin de vérifier l'hypothèse d'un lien entre quantité d'inoculum et fructification. Des amorces et sondes spécifiques ont été réalisées pour *Boletus edulis*, *Lactarius deliciosus*, *Rhizopogon roseolus* et *Tuber melanosporum*. La dynamique annuelle du mycélium dans le sol ainsi que des récoltes d'ectomycorhizes et de fructifications de *B. edulis* et *L. deliciosus* ont été étudiées dans deux forêts de pins à Soria (Espagne). La quantification du mycélium dans le sol a aussi été effectuée sur deux plantations de *R. roseolus* x *Pinus pinea* et de *T. melanosporum* x *Quercus ilex*, en Catalogne (Espagne). Le mycélium de *T. melanosporum* a également été quantifié dans une truffière naturelle et dans sept vergers truffiers (d'environ 20 ans) établis en Navarre (nord de l'Espagne). Les résultats n'ont pas permis de mettre en évidence une relation directe entre la quantité de mycélium du sol et la production des fructifications pour aucune des espèces étudiées. Par contre, il a été possible d'obtenir des corrélations positives entre la fréquence des ectomycorhizes et la quantité de mycélium du sol pour *B. edulis*, *R. roseolus* et *T. melanosporum*. Les résultats obtenus ouvrent la possibilité d'utiliser la quantification du mycélium du sol par PCR en temps réel comme un bon indicateur de la colonisation des racines dans les conditions naturelles (dans les zones naturelles ou dans les vergers d'origine humaine), surtout quand un échantillonnage non destructif ou une analyse plus rapide et nécessaire.

*Mots-clés* : Ectomycorhizes, mycélium du sol, PCR en temps réel, *Boletus edulis*, *Lactarius deliciosus*, *Tuber melanosporum*, *Rhizopogon roseolus*

## **Le pH et la longueur racinaire spécifique structurent les communautés fongiques dans les sols de prairie de montagne de trois pays**

**J.-M. Bonneville**, N. Legay, C. Melo de Lima, S. Lavorel, J.-C. Clément, R. A. Geremia  
Laboratoire d'Écologie Alpine, UMR 5553, Grenoble

Les communautés fongiques du sol peuvent varier sous l'influence de facteurs abiotiques et biotiques, végétaux, microbiens, qui eux-mêmes varient avec l'usage agricole. Afin d'identifier ces facteurs, nous avons analysé l'ADN fongique de sols de prairies de montagne avec des types de gestion contrastés. Ces huit types d'utilisation du sol proviennent du col du Lautaret dans les Alpes françaises (3 types), de la vallée autrichienne de Stubai (2), et de la région du Yorkshire Dales au Royaume-Uni (3), dans un dispositif de replicats emboîtés (3 sites replicats par gestion, 4 quadrats par site). L'ADN de la région ITS1 des 96 échantillons a été amplifié avec des amorces fongiques, et un total de 2 millions de lectures de produits de PCR a été obtenu par la technique Illumina Miseq (2 x 250 nt) ; chaque site réplikat y est représenté par  $>4 \cdot 10^4$  séquences. Les séquences identiques ont été alignées deux à deux, et celles semblables à plus de 98 % regroupées en unités taxonomiques opérationnelles (Motus). Au total, 12000 MOTUs ont été recensés, mais les 500 les plus abondants représentent 85% des séquences lues. L'assignation taxonomique a été réalisée par consensus après l'assignation des trois séquences les plus abondantes de chacun des MOTUs dans la base de données UNITE. La diversité fongique est plus élevée au Lautaret que dans le Stubai ou le Yorkshire, mais n'est pas directement liée à l'usage du sol. Les communautés fongiques sont nettement différenciées selon les pays d'origine, et plus fortement encore selon le type de gestion. L'ordination des communautés fongiques ne porte pas la trace d'un gradient simple d'intensité d'utilisation de la prairie. Pour mieux comprendre les variations observées, nous avons mis à profit le vaste ensemble de traits végétaux aériens et souterrains, ainsi que des paramètres biotiques et abiotiques du sol, qui ont été mesurés dans ce dispositif<sup>1,2</sup>. Une sélection de sept variables environnementales très peu corrélées les unes aux autres a été retenue après analyse des composantes principales (ACP). Le pH du sol, la longueur racinaire spécifique (SRL), le contenu en azote du sol, et la dispersion du rapport C/N de la matière organique sont non seulement les variables les plus proches des axes 1 à 4 de l'ACP, respectivement, mais aussi celles qui rendent compte de l'essentiel des distances séparant les communautés fongiques. Des MOTUs sensibles à ces paramètres ont été identifiés par une approche de régression logistique. L'analyse des traits végétaux, qui met à jour les stratégies écologiques des plantes herbacées, permet donc de surcroît de capturer une partie significative de la variabilité des communautés fongiques du sol.

<sup>1</sup>Grigulis K. *et al.*, *Journal of Ecology* 101, 47-57

<sup>2</sup>Legay N. *et al.*, soumis

## **Diversité des communautés de champignons ectomycorhiziens de hêtraies le long de gradients environnementaux en Europe**

A. Coince, B. Marcais, **M. Buée**

INRA, UMR 1136 INRA Université de Lorraine « Interactions Arbres-Microorganismes », Labex ARBRE, FR EFABA, 54280 Champenoux, France

La composition en espèce des communautés naturelles est contrôlée par la combinaison de processus neutres, de facteurs historiques et de pressions environnementales. Dans les écosystèmes forestiers tempérés, la répartition des espèces fongiques semble particulièrement dépendante de leurs habitats, suggérant que les patterns de diversité sont étroitement liés à la variabilité de paramètres écologiques locaux, comme les facteurs édaphiques, la gestion forestière ou le climat... Par ailleurs, pour tenir compte de l'hétérogénéité de ces écosystèmes, il est indispensable de multiplier à la fois le maillage des prélèvements sur site et le nombre de sites d'études. Mais, l'avènement des nouvelles technologies de séquençage et le développement de la bioinformatique permettent enfin d'envisager de telles études biogéographiques à partir d'ADN environnemental pour hiérarchiser plus finement les facteurs climatiques, édaphiques et biotiques impactant la richesse et la structure des communautés de champignons forestiers. Ce changement d'échelle en écologie microbienne a été appliqué à l'étude des communautés fongiques des sols de hêtraies, et en particulier aux espèces ectomycorhiziennes. Un large échantillonnage, réalisé au sein de gradients latitudinaux et altitudinaux, a permis d'évaluer l'impact de la température et des précipitations sur la richesse et la structure des communautés fongiques le long de ces gradients climatiques naturels. Nos résultats révèlent que, même si le pH du sol reste le facteur environnemental le plus structurant pour ces communautés, la température est déterminante pour l'assemblage des espèces à l'échelle continentale. Mais, nos résultats suggèrent fortement que la richesse fongique ne semble pas liée à ce paramètre climatique, contrairement à ce que l'on peut observer pour la majorité des macro-organismes. La comparaison de ces résultats à d'autres études récentes révèle que les assemblages fongiques pourraient répondre différemment aux paramètres du milieu en fonction de leur rattachement à certains groupes écologiques, groupes taxinomiques ou habitats.

## **Caractérisation des *Botryosphaeriaceae* associés aux maladies du bois de la vigne**

**G. Comont**, A. Bellée, M.-F. Corio-Costet

INRA, ISVV, UMR1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, CS 20032 - 33882 Villenave d'Ornon, France

Les maladies du bois de la vigne, depuis une décennie, sont devenues très préoccupantes pour les viticulteurs dans le monde. Ces maladies complexes sont sans doute liées à de nombreux facteurs biotiques ou abiotiques. De plus, l'impact de ses maladies peut être très différent selon les vignobles, voire selon les parcelles considérées. Parmi les agents pathogènes impliqués dans ces dépérissements, 13 espèces de la famille *Botryosphaeriaceae* sont décrites sur vigne. Ces espèces appartiennent à plusieurs genres différents et sont caractérisées par des agressivités très variées *in vitro* ou *in planta*. Cependant, peu de données existent sur la répartition de ces différentes espèces de champignons dans le vignoble français, ou de manière plus fine sur leur distribution au niveau d'une plante. L'objectif de cette étude est donc d'évaluer la diversité et la distribution des espèces de *Botryosphaeriaceae* présentes dans le vignoble français et d'étudier la répartition de cette famille de champignons sur des plantes symptomatiques ou non. Pour cette étude, des plants exprimant ou non des symptômes foliaires provenant de 21 parcelles issues de 7 régions viticoles françaises ont été échantillonnés. Les 600 isolats de *Botryosphaeriaceae* issus de cette campagne de prélèvements ont été identifiés morphologiquement et génétiquement sur la base du domaine 5' terminal du gène de la grande sous-unité ribosomique (28S). Pour certaines souches représentatives, cette identification a été complétée par l'amplification de la zone inter génique ITS1-ITS2, ou par une séquence du gène de la  $\beta$ -tubuline. Six espèces de *Botryosphaeriaceae* ont été identifiées dans différents vignobles français : *Botryosphaeria dothidea*, *Spencermartinsia viticola*, *Neofusicoccum parvum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Diplodia mutila* et *Diplodia seriata*. L'espèce *D. seriata* est l'espèce très majoritairement isolée dans le vignoble sur des plantes saines ou ayant présenté des symptômes. Cette étude a été complétée par des tests d'agressivité *in planta* démontrant des différences importantes d'agressivité selon l'espèce considérée.

*Mots-clés* : *Botryosphaeriaceae*, dépérissement du bois, vigne, phylogénie, agressivité

# **Communications orales**

## ***Session 4*** **Épidémiologie**



## The use of models in the study of plant pathogen adaptation

**F. van den Bosch**

Rothamsted Research, Harpenden AL5 2JQ, Royaume-Uni

Just like any other organism, plant pathogens are under constant pressures to adapt to new circumstances. Changes in climate and other environmental variables lead to the evolution of new types better adapted to the changed environment. Moreover any disease control method puts a selection pressure on the pathogen population to evolve types that are less prone to the control. To be able to manage crop pathogen populations sustainably it is of key importance to understand the evolutionary-ecology of plant pathogens. We discuss the evolutionary consequences of disease control using fungicides and the evolutionary consequences of environmental change on pathogen transmission mode. The evolution of fungicide resistance is in many cases due to a single genetic change (often a mutation) conferring high levels of resistance making this a relatively simple system. The evolution of pathogen transmission mode is governed by many genes presenting a case where quantitative population genetic analysis is used.

Fungicide resistance: The control of fungal plant pathogens has been characterized by repeated cycles of introduction of fungicides and subsequent loss of efficacy due to the emergence of resistant strains. Due to the economic importance of fungicides many field studies exist. We use a principal from population genetics of clonal organisms to develop a governing principal and use this to review the existing experimental evidence on the (i) management of application dose, (ii) managing the number of applications, (iii) use of fungicide mixtures and alternation, and combinations of these. Further we discuss models to quantify the effectiveness of resistance management methods.

The evolution of transmission mode: Many pathogens transmit to new hosts by both infection (horizontal transmission) and transfer to the infected host's offspring (vertical transmission). These two transmission modes require specific adaptations, resulting in a trade-off between horizontal and vertical transmission. We show that such trade-offs can lead to the simultaneous existence of two evolutionary stable states (evolutionary bi-stability) of allocation of resources to the two modes of transmission. Using PCR-based estimates of abundance in seed and vegetative parts, we show that the pathogen, *Phaeosphaeria nodorum*, has jumped between two distinct states of transmission mode twice in the past 160 years, which, based on published evidence, we interpret as adaptation to environmental change.

van den Bosch F *et al.*, 2010. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 277, 1735-1742.

Hobbelen P. *et al.*, 2011. *Plant Pathology* 60, 304-313.

Hobbelen P. *et al.*, 2011. *Phytopathology* 101, 1224-1233.

van den Bosch F *et al.*, submitted. *Annual Review of Phytopathology*.

**Keywords:** mathematical models, evolutionary ecology of plant pathogens, fungicide resistance, pathogen transmission mode

## **StrainRanking – Une méthode statistique exploratoire (et un package R) pour classer des souches pathogènes en fonction de leur contribution à une épidémie naturelle**

**S. Soubeyrand<sup>1</sup>**, C. Tollenaere<sup>2,3</sup>, E. Haon-Lasportes<sup>1</sup>, A.-L. Laine<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INRA, UR546 Biostatistique et Processus Spatiaux, 84914 Avignon, France

<sup>2</sup>Metapopulation Research Group, Dpt. Of Biosciences, P.O. Box 65 (Viikinkari), 00014 University of Helsinki, Helsinki, France

<sup>3</sup>IRD, UMR Résistance des Plantes aux Bioagresseurs (IRD-CIRAD-UM2), 911 Av. Agropolis, BP64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France

La diversité génétique dans une population d'agents pathogènes peut être un facteur important d'hétérogénéité des dynamiques épidémiques. Cependant, à ce jour, nous comprenons mal comment la diversité génétique des pathogènes impacte les dynamiques épidémiques naturelles parce que les données génético-épidémiologiques et les outils statistiques nécessaires pour répondre à cette problématique font défaut. Dans cette communication, nous proposons d'associer les données démographiques et génétiques récoltées sur un agent pathogène au cours d'une épidémie naturelle en les analysant à l'aide d'une nouvelle méthode statistique exploratoire qui permet de classer les souches pathogènes observées en fonction de leur contribution au développement de l'épidémie. Les données démographiques fournissent une mesure de la progression de la maladie dans le temps et l'espace, et les données génétiques fournissent les répartitions spatiales relatives des souches pathogènes observées. Nous avons testé la méthode sur des données simulées selon un modèle épidémique stochastique et multi-souche. Puis nous l'avons appliquée à des données épidémiologiques et génétiques recueillies au cours d'une épidémie naturelle d'oidium dans une population de plantain lancéolé située dans l'archipel Aland en Finlande. Notre approche, qui permet la comparaison de souches pathogènes dans le cas d'une épidémie naturelle, est complémentaire de la pratique plus classique consistant à utiliser l'expérimentation dans des conditions contrôlées pour estimer l'agressivité de différentes souches pathogènes. D'un point de vue technique, la méthode statistique proposée est une méthode exploratoire qui s'appuie principalement sur la régression, le lissage par noyau et la randomisation. La méthode n'est ainsi pas basée sur des hypothèses mécanistes relatives à la dynamique épidémique et peut être appliquée à un large éventail d'agents pathogènes. Enfin, la méthode proposée a été implémentée dans le package StrainRanking disponible sur le site internet du logiciel libre de statistique R.

Soubeyrand S, Tollenaere C, Haon-Lasportes E, Laine A.-L., 2013. StrainRanking: Ranking of pathogen strains – R contributed package <http://cran.r-project.org/web/packages/StrainRanking/>

*Mots-clés* : classement, données démographiques, données génétiques, épidémie multi-souche, rangs, statistique, souches pathogènes

## **Allocation optimale de cultures dans un paysage agricole : conflits entre dynamique épidémique, durabilité de la résistance et évolution à long terme des populations pathogènes**

**J. Papaïx**<sup>1,2,3</sup>, J.J. Burdon<sup>3</sup>, J. Zhan<sup>4</sup>, C. Lannou<sup>1</sup>, P.H. Thrall<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INRA – Santé des Plantes et Environnement, UR 1290 BIOGER-CPP, 78850 Thiverval-Grignon, France.

<sup>2</sup>INRA – Mathématiques et Informatique Appliquées, UR 341 MIAJ, 78352 Jouy-en-Josas, France.

<sup>3</sup>CSIRO – Plant Industry, GPO Box 1600, Canberra, ACT 2601, Australia.

<sup>4</sup>Key Lab for Biopesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, 350002, China.

La diversification des cultures (inter et intra spécifique) à l'échelle d'un paysage est un principe clef dans la gestion durable des épidémies en milieu agricole. En effet, il est généralement admis que l'augmentation de la diversité au sein d'une population hôte réduit le risque épidémique. Pour retirer le plus grand bénéfice de l'utilisation de cette diversité en agriculture, il est tout de même nécessaire de définir des stratégies de déploiement raisonné des différentes cultures. Pourtant, dans l'état actuel de la littérature, l'étude du lien entre la structure spatiale d'un paysage agricole et sa résistance aux épidémies s'est concentrée de façon indépendante à des échelles temporelles différentes, et ceci en se basant soit sur des critères démographiques soit sur des critères évolutifs. De ce fait nous n'avons pas une vision globale de la meilleure stratégie de déploiement spatial des cultures prenant en compte la dynamique démo-génétique des populations pathogènes. Dans ce travail nous développons un modèle de simulation stochastique de la dynamique démo-génétique d'une population pathogène se développant dans un paysage agricole spatialement hétérogène et soumise à l'alternance de deux saisons. Nous simulons des épidémies sur 50 années et étudions les conséquences de la composition et de la structure spatiale du paysage sur (i) la dynamique épidémique à court terme, (ii) la durabilité à moyen terme des variétés résistantes et (iii) l'évolution des populations pathogènes à long terme. Nous montrons qu'il existe clairement des contraintes très fortes pour optimiser ces trois critères simultanément : la meilleure stratégie à court terme est la pire situation pour la durabilité, les meilleures solutions à court et moyen termes sont parmi les pires à long terme. Ces résultats montrent que le meilleur déploiement de la diversité culturelle en milieu agricole dépend de l'objectif visé et prône pour une gestion adaptative du paysage nécessitant un suivi régulier des populations pathogènes et de l'organisation du territoire.

## PODYAM : une structure générique pour modéliser les dynamiques de populations dans les paysages agricoles

M. Gosme<sup>1</sup>, F. Vinatier<sup>1,2</sup>, L. Hossard<sup>1</sup>, M. Valantin-Morison<sup>1</sup>, M.-H. Jeuffroy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR211 Agronomie, F-78850 Thiverval-Grignon, France

<sup>2</sup>INRA, UMR1221 LISAH, F- 34060 Montpellier, France

La protection intégrée des cultures nécessite de combiner plusieurs méthodes de lutte et de considérer leurs effets sur plusieurs bioagresseurs simultanément. Il existe de nombreux modèles qui simulent le développement et les attaques d'un bioagresseur donné sur une culture donnée, mais il est difficile de les utiliser pour concevoir des stratégies de protection intégrée des cultures car ils n'utilisent pas les mêmes formalismes. Il est donc impossible de simuler les effets des pratiques sur l'ensemble du cortège de bioagresseurs d'une culture, ou les effets non intentionnels des pratiques d'une culture sur les autres cultures de la rotation ou du paysage. Nous proposons une structure générique qui permet de modéliser la dynamique de population de plusieurs bioagresseurs (pathogènes, insectes ravageurs, adventices) et auxiliaires dans un paysage afin de prédire l'effet de la configuration spatiale des stratégies de gestion sur les principaux bioagresseurs d'un territoire. L'espace est représenté sous forme de pixels de différentes tailles emboîtés afin de représenter chaque espèce à une échelle pertinente. Les populations de chaque espèce sont divisées en plusieurs compartiments représentant soit le stade de développement (insectes), soit les différentes formes (pathogènes), soit les différents organes (plantes). Le cycle de vie des organismes ainsi que les pratiques culturales sont représentés grâce à des processus génériques qui modifient les matrices d'abondance (pixel x compartiment), et qui utilisent différentes fonctions interchangeables et paramétrables à volonté pour représenter les bioagresseurs voulus. Une interface graphique permet de guider l'utilisateur dans l'assemblage de ces fonctions et une base de données de fonctions et de paramètres concernant plusieurs bioagresseurs vient compléter les outils mis à disposition des modélisateurs pour construire facilement des modèles multi-bioagresseurs spatialement explicites. Afin de démontrer la généricité de la structure, trois modèles existants, représentant la rouille brune du blé<sup>1</sup>, le méligèthe, son parasitoïde<sup>2</sup> et le phoma du colza<sup>3</sup> ont été adaptés dans cette structure.

<sup>1</sup>Papaix J, 2011. Thèse de Doctorat <<http://pastel.archives-ouvertes.fr/pastel-00737855>>.

<sup>2</sup>Vinatier F, Gosme M, Valantin-Morison M, 2012. *Landscape Ecology* 27, 1421–1433.

<sup>3</sup>Lô-Pelzer E. *et al.* 2010. *Field Crops Research* 118, 73–81.

*Mots-clés* : modélisation, paysage, cortège de bioagresseurs, protection intégrée des cultures

## **Dispersion de *Hymenoscyphus albidus* à l'échelle d'une commune : effet des caractéristiques du paysage**

**B. Marçais, C. Husson, T. Scordia**

UMR INRA-Université de Lorraine Interaction Arbres/microorganismes

Ash decline induced by *Hymenoscyphus pseudoalbidus* is an emerging disease that severely affects *Fraxinus excelsior* stands in Europe, jeopardizing the use of this species in forestry. The disease had an invasive spread from East to West of Europe in the last decade and arrived in eastern France in 2008. We studied the influence of landscape features on the dispersal pattern of the pathogen at the scale of a village territory comprising forest and agricultural lands with isolated / hedges trees. For that, ash trees were mapped on a 140 x 140 m grid on a landscape of 3.5 x 6.5 km located in eastern France in a village where the disease had been present since 2 years. Plots were established on the 294 grid points with presence of ash and the decline status of the up to 20 ash trees was assessed during the 2011 vegetation season. The local environment was also characterized (land use, distance to road or rivers). Additionally, the aerial spore inoculum was monitored. Respectively 50, 100 and 130 spore traps were placed in July 2011, 2012 and 2013 at known distance from infected ashes to study the pattern of *H. pseudoalbidus* spore spread (distance range from 0 to 800 m). The amount of spore per trap was then analysed by quantitative PCR. The results of the work showed that the dispersal pattern of *H. pseudoalbidus* at the local scale is not very large. Indeed, the aggregation pattern detected is of a range of about 500 m. Moreover, while spore traps could detect *H. pseudoalbidus* spore as far as 800 m, the amount of spore detected is already very low at 50 m from infected ash trees. No landscape feature could be shown to favor the dispersal of the pathogen.

*Keywords:* Ash dieback, *Hymenoscyphus albidus*, dispersal, landscape features, aerial inoculum monitoring

## Transmission de *Leptosphaeria maculans* entre parcelles de saisons culturales successives

L. Bousset<sup>1</sup>, S. Jumel<sup>1</sup>, V. Garreta<sup>2</sup>, H. Picault<sup>1</sup>, S. Soubeyrand<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR1349 IGEPP, BP35327, 35653 Le Rheu, France

<sup>2</sup>INRA UR546 BiOSP, 84914 Avignon, France

Pour limiter les épidémies fongiques, la culture de variétés résistantes a l'avantage d'être techniquement facile. Cependant, leur efficacité ne demeure stable qu'en l'absence d'adaptation des populations pathogènes aux résistances de leurs hôtes. Dans les agro-écosystèmes, la dynamique cyclique des épidémies<sup>1</sup> implique de traiter cette problématique d'adaptation à l'échelle d'un ensemble de parcelles, au cours des saisons culturales successives<sup>2</sup>. Ceci suppose de décrire la transmission d'inoculum entre saisons. Des simulateurs ont été développés pour hiérarchiser les stratégies de déploiement variétal à l'échelle du paysage<sup>3,4</sup> ou pour prédire le risque épidémique<sup>5</sup>. Cependant, la modélisation de la dispersion à longue distance repose sur l'extrapolation de données acquises à des distances faibles, en présence de sources ponctuelles. Pour consolider ces connaissances, notre objectif était d'acquérir des données en parcelles agricoles et de développer les méthodes pour leur analyse. A l'automne, les ascospores de *L. maculans* issues des débris de culture sur les parcelles récoltées l'été précédent (sources) sont disséminées vers les parcelles nouvellement semées en colza (cibles). Nous avons quantifié la sévérité du phoma sur les sources en 2009 puis 2011 (72 & 39 points) et sur les cibles en 2010 puis 2012 (172 & 200 points). Pour estimer la fonction de dispersion de *L. maculans* entre deux saisons consécutives, nous avons construit un modèle de dispersion dans lequel 1/ les sources sont décrites de manière continue dans l'espace formé par les parcelles sources, par un processus lognormal spatial ; 2/ les niveaux d'infection la saison suivante sont décrits de manière continue dans l'espace formé par les parcelles cibles, par une convolution des sources et de la fonction de dispersion. Dans ce modèle, les descriptions des sources et des niveaux d'infection sur les cibles sont continues spatialement alors que les données sont ponctuelles. À l'aide d'un algorithme d'inférence bayésien, neuf versions différentes du modèle ont été ajustées aux données. La version la plus adaptée (au sens du facteur de Bayes) à chacun des deux jeux de données contient une fonction de dispersion à queue lourde (exponentielle-puissance de paramètre de forme 0.5). Ces données sont les premières acquises sur des distances de 0 à 1000 m, à partir d'un ensemble de sources non ponctuelles. Elles ouvrent la perspective d'améliorer les simulateurs existants ou de produire des cartes de risque.

<sup>1</sup> Bousset L, Chèvre AM, 2012. *Journal of Botany* Article ID 938218.

<sup>2</sup> Bousset L, Chèvre AM, 2013. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 165,118–129.

<sup>3</sup> Lô-Pelzer E *et al.*, 2010. *Field Crops Research* 118,73–81.

<sup>4</sup> Hossard L *et al.*, 2013. *Environmental Modelling and Software* 48,17–26.

<sup>5</sup> Skelsey P, *et al.*, 2009. *Agricultural and Forest Meteorology* 149,419–430.

*Mots-clés* : dispersion, phoma du colza, épidémies cycliques, paysage

## ***Mycosphaerella graminicola* : même les hyperactifs sexuels ont parfois besoin d'un bon entremetteur**

**F. Suffert**

INRA, UR1290 BIOGER, Équipe Épidémiologie, 78850 Thiverval-Grignon, France

La forme sexuée de *Mycosphaerella graminicola*, champignon hétérothalique responsable de la septoriose du blé, a seulement été décrite dans les années 70. Les ascospores, libérées à partir de périthèces portés par les résidus de culture infectés, constituent la principale source d'inoculum primaire<sup>1</sup>. Nos travaux visent à comprendre les facteurs influençant le commencement des épidémies<sup>2</sup>, leur récurrence pluriannuelle, et la façon dont les populations pathogènes locales s'adaptent aux variations de leur environnement à court terme (dynamiques adaptatives saisonnières<sup>3</sup>). Les déterminants de la phase clonale (dynamique épidémique printanière dommageable à la culture) ont largement été étudiés : par exemple, réponse à la température<sup>4</sup>, effet de la pluie sur la dispersion des spores, impact de l'architecture du couvert. Ces travaux impliquent des contaminations par la forme asexuée (ou « levure ») de *M. graminicola*, facilement cultivé in vitro. La phase sexuée, quoique largement impliquée dans la récurrence des épidémies, les changements populationnels (brassage génétique) et vraisemblablement les dynamiques adaptatives, n'a été que peu étudiée faute d'approches expérimentales accessibles : le croisement de deux isolats, non maîtrisé en conditions contrôlées, constitue un verrou méthodologique. Ce verrou semble désormais levé : une expérimentation a conduit au succès de 24 croisements (sur 28) d'isolats de référence (composantes de fitness caractérisées<sup>5</sup>). Ce résultat ouvre des perspectives intéressantes aux « entremetteurs » que nous sommes désormais capables d'être, notamment pour mener des travaux d'épidémiologie quantitative (nécessitant la production importante d'ascospores) ou étudier les bases génétiques de l'agressivité de *M. graminicola*. Centrée sur des aspects pratiques (méthodologie expérimentale), cette présentation illustre, par des allers-retours entre question de recherche et conception de dispositifs expérimentaux permettant d'y répondre, les perspectives qu'ouvrent la maîtrise de la reproduction sexuée. Alors que l'existence de dynamiques adaptatives saisonnières a été établie localement<sup>3</sup>, la question de l'existence d'un trade-off entre phases de reproduction (les individus les plus agressifs sélectionnés sur leur fitness pendant l'épidémie seraient contre-sélectionnés à l'échelle interannuelle), reste ouverte : doit-on seulement invoquer un effet Allee local (isolement physique post-sélection limitant le contact avec un partenaire sexuel) ou également un trade-off sensu stricto (capacité à la multiplication clonale compensée par une capacité moindre à la reproduction sexuée) ?

<sup>1</sup>Suffert F, Lannou C, Sache I, 2010. *Plant Pathology* 60, 166-177.

<sup>2</sup>Suffert F, Sache I, 2011. *Plant Pathology* 5, 878-889.

<sup>3</sup>Suffert F, 2013. 8<sup>e</sup> Colloque de la SFP, 5-8 juin 2012, Paris.

<sup>4</sup>Bernard F, Sache I, Suffert F, Chelle M, 2013. *New Phytologist* 198, 232-240.

<sup>5</sup>Suffert F, Sache I, Lannou C, 2013. *Plant Pathology* 62, 1330-1341.

## Mate limitation, recurrent epidemic outbreaks, and the coexistence of sexual and asexual plant parasites

V. Ravigné<sup>1</sup>, V. Lemesle<sup>2</sup>, L. Mailleret<sup>3</sup>, **F. M. Hamelin**<sup>4</sup>

<sup>1</sup>CIRAD, UMR BGPI, F-34398 Montpellier Cedex 5, France

<sup>2</sup>CIRAD, UPR Systèmes Bananes et Ananas, F-34398 Montpellier Cedex 5, France

<sup>3</sup>INRA, UMR 1355 ISA, F-06903 Sophia Antipolis Cedex, France

<sup>4</sup>AGROCAMPUS OUEST, UMR 1349 IGEPP, F-35042 Rennes Cedex, France

To date, relatively few studies have focused on the effects of sex on population dynamics. Previous models found that sexual reproduction may either dampen population fluctuations or accentuate population fluctuations, depending on mating system notably. Here we were interested in the effect of mate limitation in pathogens in which both sexual and asexual reproductions occur simultaneously within direct life cycles, a life history typical of many fungal plant pathogens for instance. We modelled the epidemiological dynamics of such species by considering a SIR model with two modes of transmission, one linear and the other bilinear in infected density. We found that the threshold for epidemic development is the same as expected under strictly asexual dynamics. We showed that sexual spore production promotes more complex dynamics (cycles) than strictly asexual reproduction. We further showed that sexual reproduction has important consequences for the coexistence of parasites infecting the same host: in parameter ranges where the parasite population dynamics fluctuate, the stable coexistence of parasites on the same host is possible, whereas it is not in the asexual case. We discuss the implications of these results for understanding complex epidemiological dynamics and point to some consequences for epidemics management.



## Relations entre composantes de la résistance quantitative et résistance au champ, chez la rouille brune du blé causée par *Puccinia triticina*

H. Goyeau, G. Azzimonti, J. Papaïx, C. Lannou

<sup>1</sup>INRA, BIOGER-CPP 78850 Thiverval-Grignon France

Les traits quantitatifs, nommés composantes d'agressivité chez le pathogène ou composantes de la résistance chez l'hôte, sont généralement mesurés en conditions contrôlées à l'échelle d'un seul cycle épidémique, alors que la résistance mesurée au cours d'une épidémie au champ résulte d'une succession de cycles du pathogène. L'objectif de cette étude est de déterminer la contribution des traits quantitatifs à la résistance au champ par i) une analyse des corrélations entre traits quantitatifs, et ii) une analyse des relations entre ces traits, d'une part, et le développement épidémique au champ à différents stades de l'épidémie, d'autre part. Une série de variétés de blé, de différents niveaux de résistance, a été confrontée à trois pathotypes de *P. triticina*. L'efficacité d'infection (IE), la période de latence (LP), la taille de lésion (LS), la production de spores par lésion (SPL), et la capacité de production de spores (SPC) ont été mesurées en serre. La sévérité de la maladie (DS) a été notée au champ à trois dates différentes. L'utilisation de Modèles Linéaires Généralisés dans un cadre Bayésien a permis d'estimer correctement les interactions spécifiques cultivar-isolat. Pratiquement tous les traits quantitatifs étaient corrélés entre eux : les corrélations positives entre IE, LP et SPS peuvent s'expliquer par un effet pléiotropique de la résistance de l'hôte ou de la fitness du pathogène. Tous les traits quantitatifs étaient corrélés à la résistance au champ, excepté SPL. La corrélation observée entre taille de lésion élevée et bonne résistance au champ est surprenante, mais elle peut s'expliquer par un trade-off entre LS et SPS, par ailleurs mis en évidence en serre. La corrélation entre DS et IE, LP ou LS a augmenté au cours de l'épidémie, suggérant un effet cumulatif. LP et LS étaient corrélées à DS à toutes les dates de notation, alors que IE était corrélée au milieu et à la fin, ce qui suggère que l'influence de IE n'est perceptible qu'après le démarrage de l'épidémie. SPS était corrélé à DS au début et en milieu d'épidémie, ce qui suggère que la production de spores joue fortement sur le démarrage de l'épidémie. La variabilité des corrélations entre traits quantitatifs et développement épidémique suggère une diversité des mécanismes associés à ces traits, diversité qui peut être exploitée pour augmenter la durabilité de la résistance.

*Mots-clés* : modèle bayésien, agressivité, trade-off, trait quantitatif, interaction hôte-pathogène

## **Structure du peuplement végétal et importance des attaques de deux bioagresseurs du cacaoyer (*Moniliophthora roreri* et *Phytophthora megakarya*) dans des agroforêts tropicales**

C. Gidoïn<sup>1</sup>, J. Avelino<sup>1</sup>, M. Ten Hoopen<sup>1</sup>, M.-A. Ngo-Bieng<sup>2</sup>, C. Cilas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIRAD, UR 106 Bioagresseurs, TA A-106 / D - Campus international de Baillarguet, F-34398 Montpellier, France

<sup>2</sup>CIRAD, UMR SYSTEM, CIRAD – INRA – SupAgro Montpellier, Campus de la Gaillarde, 2 place Pierre Viala, Bât. 27, 34060 Montpellier Cedex 2

Les agroforêts tropicales sont des agroécosystèmes caractérisés par une forte diversité végétale et une diversité d'organisation spatiale des individus. Les structures complexes de ces agroécosystèmes en font des systèmes « proches » des écosystèmes naturels. Cette complexité améliorerait la fourniture de nombreux services écosystémiques, dont la régulation naturelle des bioagresseurs des cultures. La complexité de structure (composition et structure spatiale) des agroforêts influence t'elle la présence et l'intensité d'attaque des bioagresseurs de la culture principale. Pour répondre à cette question, nous nous sommes intéressés aux agroforêts à cacaoyers du Costa Rica et du Cameroun. En effet, la culture du cacaoyer est l'une des rares cultures encore réalisée traditionnellement au sein d'agroforêts dans la majorité des pays producteurs. Trois bioagresseurs du cacaoyer, choisis pour leurs caractéristiques de dissémination et de développement contrastées ont été plus particulièrement suivis: au Costa Rica, la moniliose sur un réseau de parcelles installées dans la région de Talamanca ; au Cameroun la pourriture brune des cabosses sur un réseau de parcelles installées dans la région Centre. Dans un premier temps nous avons construit des typologies descriptives des structures spatiales des agroforêts à cacaoyers du Costa Rica et du Cameroun afin d'identifier la variabilité des structures spatiale des agroforêts au sein d'une même région. Ces typologies ont permis d'identifier des structures spatiales horizontales variées allant de la régularité à l'agrégation significatives des arbres d'ombrage selon les pays étudiés. Dans un deuxième temps nous avons identifié et hiérarchisé les caractéristiques de composition et de structure spatiale à l'échelle de la parcelle agroforestière qui influencent l'intensité d'attaque de la moniliose au Costa Rica ; et de la pourriture brune au Cameroun. La structure spatiale du peuplement végétal joue un rôle prépondérant dans l'ensemble de nos résultats. L'agrégation des arbres forestiers augmente l'intensité d'attaque de la moniliose au Costa Rica. La pourriture brune augmente lorsque la densité des individus de la strate basse augmente à l'échelle de la parcelle. Ces résultats sont discutés en fonction des nombreux mécanismes qui relient la structure de la végétation aux bioagresseurs et des caractéristiques de ces bioagresseurs. Ce travail fournit une description précise de la structure d'agroécosystèmes tropicaux complexes. Dans les systèmes étudiés, les relations entre les structures observées et la régulation des bioagresseurs sont plus particulièrement explorées. Dans le cadre de l'agroécologie, ce travail ouvre des perspectives pour l'identification et la compréhension des mécanismes écologiques impliqués dans la régulation naturelle des bioagresseurs du cacaoyer à l'échelle de la parcelle.

*Mots clés* : agroforêt, structure spatiale, bioagresseurs, cacaoyer, épidémiologie

**Comment des changements dans la dynamique de sensibilité d'une culture et de pratiques culturales doivent être utilisés pour mieux contrôler la propagation d'un champignon à l'échelle d'une parcelle ?**

A. Calonnec<sup>1</sup>, J.B. Burie<sup>2</sup>, M. Langlais<sup>2</sup>, Y. Mammeri<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR1065 SAVE, 33883 Villenave d'Ornon, France

<sup>2</sup>Université de Bordeaux, IMB, UMR 5251, 33076 Bordeaux, France

<sup>3</sup>LAMFA - CNRS UMR 7352, 80039 Amiens, France

Nous avons développé un modèle EDP-EDO pour décrire le développement d'épidémies d'oïdium sur vigne à l'échelle de la parcelle. Le modèle est capable de simuler les caractéristiques principales du système : 1) une culture en croissance pendant toute une saison avec évolution de sensibilité dans le temps, 2) une culture fortement structurée dans l'espace avec des rangs et des hétérogénéités potentielles de croissance et de sensibilité au sein de la parcelle et entre parcelles. Des simulations ont été réalisées pour tester l'effet de ces hétérogénéités spatiales et temporelles sur des épidémies d'oïdium de la vigne. Les hétérogénéités considérées étaient la vigueur des plantes, des différences de phénologie et de sensibilités entre zones (sensible vs résistant, traité vs non traité) pour des dispositions spatiales de type zones ou rangs.

*Mots-clés* : modèle plante-pathogène, hétérogénéités spatiales, EDP-EDO, simulations, traitements

## Épidémiologie de populations de *Fusarium oxysporum* et *F. dimerum* en milieu hospitaliers à Dijon et Nancy

C. Steinberg<sup>1</sup>, J. Laurent<sup>1</sup>, V. Edel-Hermann<sup>1</sup>, M. Barbezant<sup>2</sup>, N. Gautheron<sup>1</sup>, N. Sixt<sup>3</sup>, F. Dalle<sup>4,5</sup>, S. Aho<sup>6</sup>, A. Bonnin<sup>4,5</sup>, P. Hartemann<sup>2</sup>, M. Sautour<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR1347 Agroécologie 17 rue Sully, BP 86510, F-21000 Dijon, France

<sup>2</sup>Université de Nancy, Service hygiène hospitalière, 9 Avenue de la Forêt de Haye, BP154, 54505 Vandoeuvres-Nancy Cedex, 11 France

<sup>3</sup>Microbiologie Environnementale, Plateau Technique de Biologie du CHU, 2 rue Angélique Ducoudray, BP 37013, 21070 Dijon Cedex, France

<sup>4</sup>Service de parasitologie et mycologie, Plateau Technique de Biologie du CHU, 2 rue Angélique Ducoudray, BP 37013, 21070 Dijon Cedex, France

<sup>5</sup>Université de Bourgogne, UMR1347 Agroécologie 17 rue Sully, BP 86510, F-21000 Dijon, France

<sup>6</sup>Hôpital du Bocage, Service d'épidémiologie et d'hygiène hospitalière, BP 77908, 21079 Dijon Cedex, France

*Fusarium oxysporum* et *F. dimerum* sont des champignons d'origine tellurique présents dans de nombreux écosystèmes terrestres mais ils ont été récemment détectés dans les systèmes de distribution d'eau de bâtiments hospitaliers<sup>1</sup>. Une enquête épidémiologique incluant divers bâtiments hospitaliers sur différents sites, des complexes non-hospitaliers et des maisons individuelles a été menée pendant deux ans dans deux villes françaises, Dijon et Nancy. Les champignons ont été détectés seulement dans les canalisations de bâtiments hospitaliers et n'ont pas été détectés dans celles des autres immeubles ni dans l'eau du réseau urbain. Cette distribution surprenante s'explique par une combinaison de trois facteurs principaux: i) la complexité du système de distribution d'eau d'un ensemble de bâtiments rénovés régulièrement; cette complexité comprend la diversité des matériaux utilisés pour les tuyaux et l'existence de bras morts dans lesquels l'eau stagne; ii) l'application d'un procédé de désinfection qui crée des vides écologiques et rend des ressources trophiques et spatiales disponibles pour les champignons opportunistes; iii) le potentiel réel de souches de *F. oxysporum* et *F. dimerum* pour s'adapter et exploiter le milieu aquatique urbain. La très faible diversité génétique (intergenic spacer IGS et facteurs d'élongation (EF)) entre les différents isolats de *F. oxysporum* d'une part et de *F. dimerum* d'autre part suggère pour chacune de ces 2 espèces telluriques l'existence d'une population unique spécialisée dans la colonisation et l'exploitation des ressources fournies par les canalisations d'eau de bâtiments hospitaliers, phénomène analogue à celui observé aux États-Unis<sup>2</sup>. Le risque de fusariose causé par ces formes invasives et opportunistes particulières doit être pris au sérieux pour éviter toute contamination des patients immunodéprimés.

<sup>1</sup>Sautour M *et al.*, 2012. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 215, 286-292.

<sup>2</sup>O'Donnell K *et al.*, 2004. *Journal of Clinical Microbiology* 42, 5109-5120.

*Mots clés* : adaptation, champignons du sol, diversité, niche aquatique, risque sanitaire

# **Communications orales**

## ***Session 5***

### **Interactions moléculaires**

**Arbuscular mycorrhizal fungi and the fine line between mutualism and parasitism**

**N. Requena, C. Heck, J. Götzenberger, R. Betz**

Molecular Phytopathology, Karlsruhe Institute of Technology, Allemagne

Arbuscular mycorrhizal fungi form a mutualistic symbiosis with roots of most terrestrial plants. In this symbiosis, the fungus improves plant nutrition and health by supplying the host plant with minerals such as phosphate, nitrogen and sulfur. In reward, the plant meets the fungal demand for carbohydrates what imposes an increase in the sink strength of roots. On that account a reprogramming of the whole plant occurs including activation of invertases, sucrose synthases and various sugar transporters. In this delicate situation, an exquisite balance between giving and taking has to be achieved in order to stabilize this mutualism and avoiding parasitism. It is to be predicted that to this end a molecular communication between fungus and plant has to exist to guarantee proper symbiosis development at all stages. We recently showed that part of this communication is based on the secretion of fungal effector proteins that modulate the plant cell program. This is a common mechanism exerted by pathogenic microbes when interacting with their hosts, and thus our finding reveals that the line between mutualism and parasitism is thinner than previously expected.

## **BOA13, un facteur de transcription qui régule la synthèse d'acide botcinique et d'autres fonctions impliquées dans la nécrotrophie**

**A. Porquier**, B. Dalmais, H. Sghyer, A. Simon, G. Morgant, P. Le Pêcheur, M. Viaud  
UR 1290 BIOGER-CPP, INRA Grignon, Avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval-Grignon, France

*Botrytis cinerea* est le champignon nécrotrophe responsable de la pourriture grise qui affecte plus de 200 espèces végétales. Cet agent phytopathogène possède un fort potentiel de synthèse de métabolites secondaires (MSs). Le rôle de plusieurs de ces métabolites, dont le polycétide acide botcinique, a été mis en évidence dans la mort des cellules de l'hôte et dans la colonisation de ses tissus. Les mécanismes moléculaires qui régulent l'expression des gènes codant ces MSs restent cependant jusqu'ici méconnus et leur étude présente donc un réel intérêt. Les gènes responsables de la synthèse de l'acide botcinique sont organisés en cluster (BOA) et l'un d'entre eux code un facteur de transcription (BOA13). L'analyse transcriptomique globale du mutant  $\Delta boal3$  a permis de mettre en exergue le rôle régulateur attendu du facteur de transcription (FT) sur les gènes du cluster BOA mais aussi de façon inattendue sur des gènes impliqués dans d'autres aspects de la nécrotrophie (production d'enzymes de dégradation des parois végétales, protéases, transporteurs membranaires et réponse au stress oxydatif). Ce résultat est original puisqu'il révèle une régulation par BOA13 de gènes qui ne sont pas impliqués dans le métabolisme secondaire. Les travaux en cours visent (i) à identifier les motifs de fixation de BOA13 et (ii) à déterminer si ce FT interagit directement avec les promoteurs des gènes candidats. Pour cela, ils consistent dans un premier temps à réaliser une analyse en microscopie à fluorescence des promoteurs entiers et tronqués fusionnés à la GFP au sein de transformants de *B. cinerea*. Le niveau d'intensité du signal de fluorescence permettra de mettre en évidence l'implication des régions d'intérêt dans la fixation de FTs. Ensuite, l'outil simple-hybride développé au sein du laboratoire sera utilisé pour mettre en évidence l'interaction physique possible entre BOA13 et les motifs validés lors de l'étape de microscopie. L'ensemble des FTs de la banque simple-hybride sera aussi criblé afin de vérifier si certains d'entre eux interagissent avec les motifs étudiés. L'ensemble de ces résultats nous permettra d'approfondir les connaissances relatives à la régulation de la synthèse de toxines chez le champignon nécrotrophe modèle *B. cinerea*.

Amselem J *et al.*, 2011. *PLoS Genetics* 7, 18.  
Dalmais B *et al.*, 2011. *Molecular Plant Pathology* 12, 564-579.  
Simon A *et al.*, 2013. *Fungal Genetics and Biology* 52, 9-19.

*Mots-clés* : *Botrytis cinerea*, facteurs de transcription, mycotoxines, acide botcinique, GFP, simple hybride

## Identification d'un nouvel élément du complexe Nox chez les champignons

I. Lacaze<sup>1</sup>, P. Silar<sup>2</sup>, S. Brun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CSTB, 84 av. Jean Jaures, Champs-sur-Marne, 77447 Marne-la-Vallée Cedex

<sup>2</sup>LIED, Université Paris-Diderot, 5 rue Thomas Mann, 75013 Paris

Les NADPH oxydases (Nox) sont des enzymes membranaires dont le cœur enzymatique, le flavocytochrome *b<sub>558</sub>*, produit des anions superoxydes O<sup>2-</sup> suite à l'oxydation du NADPH<sup>1</sup>. Impliquées dans de nombreux processus de signalisation chez les animaux et les plantes, les Nox sont chez les champignons notamment requises dans la reproduction sexuée, la pathogénie comme chez *M. grisea* ou *B. cinerea* ainsi que dans la symbiose entre *E. festucae* et son hôte l'ivraie vicace<sup>2</sup>. Chez les mammifères, l'activation du flavocytochrome *b<sub>558</sub>* composé de la sous-unité catalytique Nox2 couplée à la protéine membranaire p22, a lieu par le recrutement des activateurs cytosoliques p40, p47, p67 et Rac. Parmi ceux-ci, seuls les homologues de p67 (NoxR) et Rac participeraient à l'activation des Nox chez les champignons. Notre modèle d'étude *Podospora anserina*, bien que saprotrophe, développe des appressorium-like lui permettant de pénétrer les feuilles de cellophane d'une manière semblable à la pénétration des surfaces végétales par les champignons pathogènes<sup>3</sup>. Surtout, ce processus est régulé par un même lot de gènes impliqués dans la pathogénie, les gènes *Nox*. Nous avons identifié un nouveau gène participant à la cascade de signalisation régulée par *Nox1*. Après séquençage du mutant *IDC<sup>509</sup>* aux phénotypes strictement identiques à ceux du mutant *Nox1*, nous avons établi que le gène muté était l'orthologue du gène *Pro41* de *S. macrospora*. Ce gène, requis pour la formation du périthèce, code une protéine trans-membranaire du RE dont la fonction reste inconnue<sup>4</sup>. Récemment, l'équipe du Pr. P. Tudzinsky a montré que Nox1 et Nox2 sont localisées au RE chez *B. cinerea*, mettant ainsi en lumière un rôle majeur de cette organelle dans la signalisation Nox<sup>5</sup>. Dans le but de mieux comprendre le rôle de Pro41 et du RE au sein de la machinerie Nox, nous avons marqué les protéines Nox1, Pro41 et NoxR par la EGFP ou la mCherry. Nos résultats cytologiques montrent que Pro41 et Nox1 localisent au RE chez *P. anserina* mais surtout, qu'elles co-localisent avec NoxR dans des vésicules sous-membranaires issues du RE, suggérant que le complexe y serait activé. Enfin, des comparaisons bio-informatiques des protéines trans-membranaires Pro41 et p22 montrent qu'elles auraient la même topologie et plusieurs domaines conservés. Nous proposons donc que Pro41 soit l'homologue de p22 de mammifères ou bien aurait un rôle analogue à p22 dans la formation du flavocytochrome *b<sub>558</sub>*.

<sup>1</sup>Lambeth JD, 2004. *Nature Reviews in Immunology* 4, 181–189.

<sup>2</sup>Tudzynski P, Heller J, Siegmund U, 2012. *Current. Opinions in Microbiology* 15, 653–659.

<sup>3</sup>Brun S *et al.*, 2009. *Molecular Microbiology* 74, 480–496.

<sup>4</sup>Nowrousian M *et al.*, 2007. *Molecular Microbiology* 64, 923–937.

<sup>5</sup>Siegmund U *et al.*, 2013, *PLoS ONE* 8, e55879.



## Analyse de l'interaction entre les gènes d'avirulence *AvrLm3* et *AvrLm4-7* chez *Leptosphaeria maculans*

C. Plissonneau, M.-H. Balesdent, I. Fudal, T. Rouxel

INRA BIOGER CPP, Thiverval Grignon, France

*Leptosphaeria maculans* est un champignon ascomycète responsable de la nécrose du collet du colza, principale maladie sur cette culture. La méthode de lutte la plus utilisée contre cet agent pathogène est la lutte génétique. Celle-ci repose sur l'interaction entre un gène de résistance *Rlm* chez la plante et un gène d'avirulence *AvrLm* chez le champignon. L'un d'eux, *AvrLm4-7*, joue un rôle important dans la fitness fongique<sup>1</sup> et a été cloné<sup>2</sup>. Récemment, nous avons mis en évidence une corrélation négative entre les phénotypes induits par deux gènes d'avirulence, *AvrLm3* et *AvrLm4-7*<sup>3</sup>. Lorsqu'une souche possède un allèle fonctionnel du gène *AvrLm4-7*, le phénotype induit par *AvrLm3* est masqué. En cas de contournement de la résistance *Rlm7*, le phénotype *AvrLm3* apparaît. Ceci offre des perspectives originales pour la gestion durable des résistances variétales *Rlm3* et *Rlm7*. Afin d'élucider les mécanismes moléculaires sous-jacents à cette interaction négative, deux approches ont été menées en parallèle. D'une part, nous analysons des événements de mutation du gène *AvrLm4-7* au sein de populations sélectionnées sur des génotypes de colza *Rlm3* et/ou *Rlm7* et présentant le phénotype simple virulent (*AvrLm3-avrLm7*) ou double virulent (*avrLm3-avrLm7*). Cette analyse a permis de mettre en évidence une mutation ponctuelle dans la protéine *AvrLm4-7* qui semble spécifique aux souches double virulentes. D'autre part, nous avons initié le clonage du gène *AvrLm3* par une approche de clonage positionnel classique et par des approches de génomique visant à identifier des effecteurs candidats spécifiquement exprimés chez une souche au phénotype *AvrLm3*, lors de phases primaires de l'infections. 40 gènes candidats ont été identifiés et sont actuellement en cours d'analyse.

<sup>1</sup>Huang YJ *et al.*, 2010. *European Journal of Plant Pathology* 126, 279–291.

<sup>2</sup>Parlange F *et al.*, 2009. *Molecular Microbiology* 71, 851–863

<sup>3</sup>Daverdin G, 2011. Thèse de doctorat.

**Functional characterization of a *Brachypodium distachyon* UGT involved in detoxification of the *Fusarium graminearum* mycotoxin, deoxynivalenol and resistance to fungal pathogen**

**J.C. Pasquet**, C. Macadré, P. Saindrenan, M. Dufresne

Institut de Biologie des Plantes, Université Paris Sud, Bât. 630, 91405 Orsay, France

*Fusarium* head blight is a major cereal disease mainly due to the pathogenic toxinogenic fungus *Fusarium graminearum*. During its development *in planta*, the fungus produces mycotoxins harmful to humans and animals, among which deoxynivalenol (DON). No specific resistance to *F. graminearum* has been underlined but a number of quantitative trait loci (QTL) have been identified in bread wheat and barley. Genetic, transcriptional or metabolic analyses have correlated some of these QTLs to functions involved in DON detoxification, among which some UDP-glycosyltransferases (UGTs). The novel model plant *Brachypodium distachyon* is an ideal system to better understand detoxification mechanisms by cereals in response to DON. We have established that the interaction between these two partners is compatible. Mycotoxin production quantitatively affects the colonization of *B. distachyon* spikes, an intermediate situation to that known in wheat or barley. Recently, a barley UGT has been identified as being potentially involved in DON detoxification. The search for orthologous genes in *B. distachyon* by sequence homology and phylogenetic analysis has identified six candidate genes. Expression monitoring of these genes by qRT-PCR has shown that the *Bradi5g03300* gene is the preferential candidate: its expression is strongly induced 3 hours after the mycotoxin application and 72 hours after an inoculation by *F. graminearum*. Moreover, this gene is much less induced in response to a mutant strain unable to produce the mycotoxin ( $\Delta tri5$ ). Functional analyses *in planta* have been undertaken through the construction of *B. distachyon* lines exhibiting either a mutated allele or an altered expression of this gene. We have screened the *B. distachyon* TILLING mutants' collection and identified three mutant lines. These mutants exhibit an increased sensitivity to the mycotoxin and to *Fusarium*, at the root and spike levels, respectively. Analysis of lines overexpressing the UGT-encoding gene is underway and will be presented.

## L'activité antifongique des isothiocyanates des Brassicaceae est liée à leur capacité à générer un stress oxydatif

B. Calmes<sup>1,2</sup>, C. A. Brisach<sup>1</sup>, C. Champion<sup>1</sup>, B. Iacomini<sup>1</sup>, S. Pigné<sup>1</sup>, E. Dias<sup>1</sup>, J. Dumur<sup>1</sup>, T. Guillemette<sup>1</sup>, P. Simoneau<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IRHS, équipe FungiSem, Université d'Angers, 2 Bd Lavoisier 49 045 Angers, France

<sup>2</sup>IRHS, équipe EcoFun, INRA d'Angers, 42 Rue Georges Morel 49 070 Beaucozézé, France

Pour se défendre contre les attaques des bioagresseurs, les plantes produisent *de novo* des composés aux propriétés antimicrobiennes, les phytoalexines. Outre cet arsenal chimique, nombres de plantes sont capables d'accumuler constitutivement des composés issus du métabolisme secondaire qui vont participer à la protection de l'hôte. Nommés phytoanticipines, ils constituent un groupe hétérogène avec une grande diversité structurale qui suggère des modes d'action spécifiques. Les plantes de la famille des *Brassicaceae* accumulent constitutivement de grandes quantités de glucosides riches en soufre, les glucosinolates (plus d'1 % du poids sec). Lors de la colonisation par un agent pathogène, l'intégrité des cellules hôtes est perturbée permettant la métabolisation en plusieurs dérivés de ces glucosinolates par les myrosinases. Issus de cette métabolisation, les isothiocyanates (ITCs) ont un effet toxique caractérisé sur différents bioagresseurs tels que des insectes ou des champignons<sup>1</sup>. Le mécanisme d'action des ITCs a été exploré chez le champignon *Alternaria brassicicola*, agent causal de la maladie des taches noires des *Brassicaceae*. Une étude du transcriptôme de cellules fongiques exposées aux allyl-ITCs avait montré une réponse similaire à celle générée par un stress oxydatif<sup>2</sup>. Nos récents travaux ont permis de montrer que les produits issus de la dégradation des glucosinolates induisent une accumulation de ROS (reactive oxygen species) dans les cellules fongiques ainsi qu'une dépolarisation de la membrane mitochondriale. L'inactivation de gènes impliqués dans l'adaptation fongique au stress oxydatif, comme *Ap1*, *Skn7* ou *Hog1*, augmente significativement la sensibilité du champignon aux allyl-, benzyl et phenetyl-ITCs. Nous avons également confirmé l'activation de la MAP kinase HOG1 après traitement par ces composés. La réponse adaptative du champignon à ce type d'activité antifongique implique divers acteurs tels que le mannitol et les glutathion-transférases, qui apparaissent comme des facteurs importants de la pathogénicité<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Sellam A *et al.*, 2007a. *Molecular Plant Pathology* 8, 195-208.

<sup>2</sup>Sellam A *et al.*, 2007b. *FEMS Microbiology Letters* 258, 241-249.

<sup>3</sup>Calmes B *et al.*, 2013. *Frontiers in Plant Science* 4, 131.

*Mots-clés* : Isothiocyanates, *Alternaria*, Stress Oxydatif, mitochondrie, mutant KO

**Mécanismes d'action conservés chez les effecteurs CRN13 d'*Aphanomyces euteiches* oomycète parasite racinaire de légumineuses et du chytride parasite d'amphibiens *Batrachochytrium dendrobatidis***

D. Ramirez-Garcés<sup>1</sup>, L. Cambordes<sup>1</sup>, H. San-Clemente<sup>1</sup>, J. Lengellé<sup>1</sup>, M. Moreau<sup>2</sup>, B. Dumas<sup>1</sup>,  
**E. Gaulin<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales (LRSV), UMR 5546 CNRS-Université Paul Sabatier, Pôle de Biotechnologie Végétale, BP42617 Auzeville, 31326 Castanet-Tolosan

<sup>2</sup>Centre de Biologie du Développement (CBD), UMR5547 CNRS-Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, 31110 Toulouse

*Aphanomyces euteiches* est un oomycète, parasite racinaire de légumineuses. Le genre *Aphanomyces* occupe une position taxonomique originale au sein des Oomycètes, et il est le seul qui comprend des espèces affectant soit des végétaux soit des animaux. Un programme de séquençage de différentes souches et espèces du genre *Aphanomyces* est en cours dans notre équipe et le premier génome complet d'*A. euteiches* (57 Mb) est disponible (<https://www.polebio.lrsv.ups-tlse.fr/aphanoDB/>). La recherche de gènes codant des protéines sécrétées a montré l'expansion de certaines familles dont les effecteurs cytosoliques de la famille Crinklers (CRNs). Les CRNs, bien qu'initialement identifiés chez *Phytophthora infestans* (>300 gènes) et décrits comme spécifiques aux oomycètes, viennent d'être identifiés chez un champignon parasite, *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), responsable du déclin de nombreuses espèces de batraciens. Peu de données quant au rôle de cette famille d'effecteurs sont actuellement disponibles. Notre projet a porté sur l'analyse fonctionnelle du crinkler AeCRN13 d'*A. euteiches* et de son orthologue chez *Bd* BdCRN13. Lorsqu'AeCRN13 est exprimé dans les racines de *M. truncatula*, l'effecteur, adressé au noyau de l'hôte, bloque le développement et l'émergence de racines. Chez *N. benthamiana*, AeCRN13 et BdCRN13 sont également adressés au noyau où ils induisent des phénomènes de mort cellulaire. Cette activité requiert la localisation nucléaire des protéines. Chez des embryons de Xénopes, AeCRN13 et BdCRN13 présentent également une localisation nucléaire et conduisent à la formation de cellules anormalement grandes lors des phases précoces du développement embryonnaire, révélant une limitation des divisions cellulaires. Les cibles nucléaires d'AeCRN13 et BdCRN13 sont actuellement recherchées. Compte-tenu des activités observées quelque soit la nature de l'hôte, nos travaux indiquent que des organismes phylogénétiquement distants et parasites d'hôtes distincts (animaux *versus* plantes) produisent des effecteurs dont la nature et le mode d'action sont conservés. Ce travail pose également la question de l'acquisition d'effecteurs d'oomycètes par *Bd* et de leur rôle dans l'émergence de ce pathogène.

*Mots-clés* : *Aphanomyces euteiches*, *Batrachochytrium dendrobatidis*, légumineuses, amphibiens, crinklers, effecteurs, mort cellulaire, division cellulaire, noyau, conservation

## Vers la dépollution des amines aromatiques par les champignons

L. Chan Ho Tong<sup>1,2</sup>, A. Coccagn<sup>3</sup>, F. Busi<sup>3</sup>, C. Mougin<sup>4</sup>, F. Rodrigues-Lima<sup>3</sup>, J-M. Dupret<sup>3</sup>, J. Dairou<sup>3</sup>, P. Silar<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Université Paris-Sud 11, Institut de Génétique et de Microbiologie (IGM), CNRS UMR 8621, Orsay, France

<sup>2</sup>Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Institut des Energies de Demain, Paris, France

<sup>3</sup>Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Unité de Biologie Fonctionnelle et Adaptative (BFA), EAC 4413 CNRS, Paris, France

<sup>4</sup>INRA, UR 251 PESSAC, Physicochimie et Ecotoxicologie des SOLS d'Agrosystèmes Contaminés, Versailles, France

L'utilisation des microorganismes est une stratégie prometteuse pour la bioremédiation des milieux pollués. Bien que les bactéries soient communément employées en bioremédiation, l'utilisation de champignons filamenteux offre une alternative intéressante, car ils constituent la biomasse majoritaire des microorganismes du sol et sont en compétition ou en synergie avec les bactéries dans de nombreux processus métaboliques. Il a été décrit le potentiel de l'ascomycète filamenteux *Podospora anserina*, une espèce non pathogène et de durée de vie limitée, en matière de bioremédiation des arylamines<sup>1</sup>. Ce champignon exprime PaNAT2, une arylamine acetyl-transférase (NAT) très active pour détoxifier des dérivés d'aniline, dont la 3,4-dichloroaniline (3,4-DCA), produits toxiques de dégradation de certains pesticides, de médicaments et de composés d'origine industrielle<sup>2</sup>. Notre projet vise à identifier d'autres champignons ayant une activité potentielle de bioremédiation au même titre que *P. anserina*, en se basant premièrement sur une analyse phylogénétique mettant en évidence la présence de gènes NAT chez des champignons cosmopolites tels que *Trichoderma reesei*, *T. virens*, *Neurospora crassa* ou *Chaetomium globosum*<sup>3</sup>. Pour caractériser les voies de détoxification des AA, le ou les gènes NAT des différents champignons ont été introduits dans une souche de *P. anserina* délétée de ses gènes endogènes. La capacité des recombinants à résister à la 3,4-DCA, et donc à la détoxifier a été testée<sup>4</sup>. Une seconde tâche a été d'isoler des champignons résistants à la 3,4-DCA d'échantillons de sols provenant de jardins, vignobles et champs... Certains de ces lieux avaient été traités par le diuron, le précurseur de la 3,4-DCA. L'idée est que des isolats naturellement résistants à la 3,4-DCA devraient avoir des NAT très efficaces. Le champignon *Fusarium solanii*, a été isolé dans presque tous les échantillons testés et *F. oxysporum* dans un seul cas. Ces deux champignons contiennent un grand nombre de gènes NAT (respectivement 5 et 4). La caractérisation des voies de détoxification de la 3,4-DCA de ces champignons est en cours en suivant les protocoles établis précédemment, incluant l'introduction des gènes chez *P. anserina* et l'expression des protéines chez *Escherichia coli*.

<sup>1</sup>Martins M *et al.*, 2009. *Journal of Biological Chemistry* 284, 18726–18733.

<sup>2</sup>Silar P *et al.*, 2011. *Nature Reviews in Microbiology* 9, 477.

<sup>3</sup>Martins M *et al.*, 2010. *Journal of Molecular Evolution* 71, 141–152.

<sup>4</sup>Coccagn A *et al.*, 2013. *Applied and Environmental Microbiology* 79, 4719-4726.

## L'outil « BioMolChem » utilisé dans le vignoble pour prévoir l'état de défense et le niveau de protection de la vigne contre le mildiou après élicitation

M.-C. Dufour, L. Druelle, M.-F. Corio-Costet

INRA-ISVV, UMR1065 Santé et Agroécologie du Vignoble (1065), 71 rue Édouard Bourlaux, CS 20032 33882 Villenave d'Ornon Cedex, France

La vigne est soumise à la pression de nombreux bioagresseurs dont des parasites obligatoires tels que l'oïdium (*Erysiphe necator*) et le mildiou (*Plasmopara viticola*), qui nécessite une lutte intégrant une utilisation souvent intensive de fongicides. Pour réduire leur impact environnemental (développement de phénomènes de résistance aux fongicides et risque de pollution), des stratégies de protection innovante alternatives et/ou complémentaires doivent être développées pour réduire ces intrants. Les stimulateurs des défenses des plantes (SDP) permettent de limiter le développement des bioagresseurs en condition contrôlées. Cependant, bien qu'efficace en conditions contrôlées au laboratoire, l'application des stimulateurs de défense *in natura* est plus délicate et conduit généralement à des résultats très variables et souvent décevants. Devant la multiplicité des produits potentiellement stimulateurs des défenses des plantes, et devant l'intérêt que leur portent les viticulteurs, il est nécessaire de disposer de connaissances et d'outils qui permettent d'évaluer l'efficacité de ces stimulateurs et de mieux connaître leur potentiel de protection au vignoble. Pour ce faire, une méthode appelée « BioMolChem », basée sur une triple approche (BIOlogique, MOLéculaire avec l'expression de gènes impliqués dans les défenses et BIOchimique avec l'analyse qualitative et quantitative des polyphénols) nous a permis d'évaluer et de comparer l'efficacité et le mode d'action d'éliciteurs potentiels et d'établir des corrélations préliminaires entre l'expression de gènes de défense, la présence de stilbènes, et le niveau de protection de la vigne dans des conditions contrôlées<sup>1,2</sup>. Sur la base de ces marqueurs, nous avons évalué leur intérêt comme indicateurs de la défense et/ou de protection *in natura*. Des essais ont été réalisés au vignoble en 2011 pour évaluer le véritable potentiel de protection des SDP testés seuls ou en combinaison avec des fongicides, et après inoculation artificielle du mildiou. L'ensemble de ce travail, à but appliqué, a conduit à l'obtention de résultats qui nous permettent de mieux comprendre comment réagit la vigne aux SDP dans son environnement agronomique. Leur exploitation et leur finalisation devraient nous permettre d'exploiter et de mettre en place une utilisation des éliciteurs mieux adaptée à des stratégies alternatives ou complémentaires de la gestion des bioagresseurs de la vigne.

Dufour MC *et al.*, 2013. *Plant Pathology* 62, 370-382.

Dufour MC, 2011. Thèse de doctorat, Université Bordeaux 2.

*Mots-clés* : *Plasmopara viticola*, stimulation des défenses de la vigne, élicitation, marqueurs de défense /protection.

## **La voie de signalisation des phytosulfokines chez les plantes est empruntée par différents agents pathogènes pour établir la maladie**

N. Rodiuc<sup>1</sup>, I. Baures<sup>1</sup>, M. Clément<sup>1</sup>, V. Allasia<sup>1</sup>, X. Barlet<sup>2</sup>, G. Engler<sup>1</sup>, L. Perfus-Barbeoch<sup>1</sup>, S. Hok<sup>1</sup>, A. Séassau<sup>1</sup>, J. de Almeida-Engler<sup>1</sup>, F. Panabières<sup>1</sup>, P. Abad<sup>1</sup>, B. Kemmerling<sup>3</sup>, Y. Marco<sup>2</sup>, F. Marcel<sup>4</sup>, A. Bendahmane<sup>4</sup>, B. Favery<sup>1</sup>, **H. Keller<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>UMR-Institut Sophia Agrobiotech, INRA 1355 - CNRS 7254 - Université Nice-Sophia Antipolis, 06903 Sophia Antipolis, France.

<sup>2</sup>Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes, UMR CNRS 2594 - INRA 441, 31326 Castanet Tolosan, France.

<sup>3</sup>Department of Plant Biochemistry, University of Tübingen, 72076 Tübingen, Allemagne.

<sup>4</sup>Unité de Recherche en Génomique Végétale, INRA-CNRS, 91057 Évry, France.

Les oomycètes sont des agents pathogènes filamenteux ravageurs non seulement des écosystèmes naturels, mais aussi de l'agriculture. Notre recherche vise à caractériser les mécanismes moléculaires qui régissent, chez les plantes hôtes, la mise en place de la maladie. Deux gènes codant des récepteurs de type "receptor-like kinase" (RLK) ont ainsi été identifiés chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* comme impliqués dans l'infection par les oomycètes pathogènes, *Hyaloperonospora arabidopsidis* et *Phytophthora parasitica*. Les RLK ont un rôle clé dans le développement végétal<sup>1</sup>, la résistance innée<sup>2</sup> et dans l'accueil des microorganismes symbiotiques<sup>3</sup>. L'analyse fonctionnelle d'un des RLK sera présentée. Les agents pathogènes biotrophes déclenchent fréquemment la rédifférenciation cellulaire chez l'hôte, transformant les cellules végétales en sites nourriciers essentiels pour l'infection. Les phytosulfokines (PSK) sont des hormones peptidiques sulfatées présentes chez de nombreuses plantes. Les PSK sont sécrétées par les cellules végétales, se lient à un récepteur de la membrane plasmique, le Phytosulfokine Receptor 1 (PSKR1), et déclenchent la rédifférenciation cellulaire<sup>4</sup>. Nous avons constaté que les infections d'*Arabidopsis* par les oomycètes et nématodes pathogènes sont caractérisées par la régulation transcriptionnelle tissu-spécifique de *PSKR1*, et par la relocalisation du récepteur dans les membranes plasmiques des tissus infectés. En absence de PSKR1, les plantes mutantes sont fortement affectées dans le développement des sites nourriciers, et dans la reproduction des oomycètes et des nématodes. Ils sont également moins sensibles à l'infection par la bactérie *Ralstonia solanacearum*, responsable du flétrissement végétal. En revanche, tous les agents pathogènes se multiplient de manière plus efficace dans les plantes surexprimant le récepteur ou l'hormone PSK. PSKR1 ne semble pas réguler les mécanismes de défense de la plante au cours de l'interaction avec les oomycètes, le nématode, ou la bactérie, mais plutôt déterminer une voie de signalisation de l'hôte qui est manipulée par ces agents pathogènes très distants au niveau évolutif. L'inactivation ou la modulation ciblée de l'expression de PSKR1 pourraient ainsi être envisagées pour créer des nouvelles formes de résistance chez ces plantes. Une approche d'inactivation (par TILLING) du gène PSKR1 de tomate a été développée au laboratoire, dans le cadre d'un programme de prévalorisation<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>van Zanten M *et al.*, 2009. *Trends in Plant Science* 14, 214-218.

<sup>2</sup>Boller T, Felix G, 2009. *Annual Review of Plant Biology* 60, 379-406.

<sup>3</sup>Holsters M, 2008. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 105, 4537-4538.

<sup>4</sup>Matsubayashi Y *et al.*, 2002. *Science* 296, 1470-1472.

<sup>5</sup>Rodiuc N *et al.*, 2012. Brevet international WO/2012/017067.

**The mutualistic fungus *Laccaria bicolor* uses the effector protein MiSSP7 to alter host jasmonate signaling and establish symbiosis**

J.M. Plett<sup>1,2\*</sup>, Y. Daguette<sup>1\*</sup>, S. Wittulski<sup>1</sup>, A. Deveau<sup>1</sup>, S.J. Melton<sup>3</sup>, A. Kohler<sup>1</sup>, J. Morrell-Falvey<sup>3</sup>, A. Brun<sup>1</sup>, C. Veneault-Fourrey<sup>1</sup>, F. Martin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR INRA-UHP 1136 Interactions Arbres/Micro-organismes, Centre INRA de Nancy, Champenoux, France 54280.

<sup>2</sup>Hawkesbury Institute for the Environment, University of Western Sydney, Richmond, NSW, Australia 2753

<sup>3</sup>Biological and Nanoscale Systems, BioSciences Division, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN 37831-6445.

Roots of most trees form a nutrient-acquiring symbiosis with mutualistic fungi. MiSSP7, a fungal effector protein necessary for the mutualistic interaction between the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* and *Populus spp.*, is secreted by the fungus in contact with plant tissues and is taken up via endocytosis into plant cells where it localizes to the nucleus and targets plant transcription through an unknown mechanism<sup>1</sup>. Here we demonstrate that MiSSP7 interacts with the JAZ domain protein PtJAZ6. The JA-Ile mimick coronatine reduces the interaction between MiSSP7 and PtJAZ6. Further, *in planta*, MiSSP7 is able to stabilize PtJAZ6 from methyl-jasmonate induced degradation. Loss of MiSSP7 expression in *L. bicolor* can be complemented by transgenically varying the transcription of *PtJAZ6* or through inhibiting jasmonic acid biosynthesis in poplar roots. We conclude that MiSSP7 promotes mutualism in *Populus* by interacting with JAZ proteins. In contrast to pathogenic bacteria that promote jasmonate signaling to colonize host tissues, MiSSP7 is a novel effector used to promote mutualism by blocking jasmonic acid signaling. In addition to MiSSP7, *L. bicolor* expresses other MiSSPs to communicate with its host-plant. In particular, we demonstrate that MiSSP8 an apoplastic effectoris required for symbiosis.

<sup>1</sup>Plett JM *et al.*, 2011. *Current Biology* 21, 1197-1203.

*Mots-clés* : ectomycorhize, symbiose, acide jasmonique, effecteur



# **Journées Jean Chevaugeon 2014**

## **RÉSUMÉS DES POSTERS**

# **Posters**

## ***Session 1***

### **Génétique et évolution des populations**

**The ROAD MOVIE project - Resistance Of Apple against Diseases: Mechanisms Of Virulence and Identification of Effectors**

**B. Calmes**, T. Leroy, T. Guillemette, M. Sannier, P. Expert, M. de Gracia, V. Caffier, E. Vergne, E. Chevreau, C.-E. Durel, C. Lemaire, B. Le Cam

IRHS UMR 1345 INRA, Université d'Angers, Agrocampus Ouest. 42 rue G. Morel. 49071 Beaucouze. France

Virulence factors, also called effectors, are released by the pathogens into the plants during the early steps of the interaction and can be the starting point of the invasive colonization. It has been demonstrated that they are able to modulate the host defence responses. Some of them are also able to elicitate resistance mechanisms and trigger Hypersensitive Response (HR). In that last case, they are recruited by the plant, through their recognition by plant proteins mediating resistance (R gene). If these effectors, so called avirulence effectors, are polymorphic, the pathogen will escape plant recognition and will overcome this type of resistance. However some of these effectors are crucial for the pathogen life cycle and their function loss may induce a significant fitness cost. If so, this kind of effectors is expected to be under purifying selective pressure. Our project (ROAD MOVIE) aims at identifying the effector repertoire of *Venturia inaequalis*, their evolutionary dynamics, and studying the role of several candidate effectors in pathogenicity. The sequencing of 90 strains, collected on apple and on their wild relatives and differing in their host range or virulence, will allow us to produce an overall effector catalogue of *V. inaequalis* and related *Venturia* species. An effector subcatalogue will then be selected based on highly conserved sequences and *in planta* gene expression at the early stage of infection. Targeted gene disruptions and GFP tagged protein engineering will be used to assess the function of candidate effectors and determine their sub-cellular localization during interaction. Subsequently, the function of some effectors on the modulation of host defence will be investigated. A subset of effectors, exhibiting highly conserved sequences, will also be used to screen for novel resistance (R) genes. This combined knowledge should enable the proposition of new strategies to build durable resistance towards apple scab.

*Keywords:* effector repertoire, *Venturia inaequalis*, durable resistance, KO mutants

## Impacts de la domestication sur les traits d'histoire de vie : mise en évidence du syndrome de domestication chez un pathogène *Venturia inaequalis*

M. de Gracia<sup>1,2,3</sup>, M. Cascales<sup>1,2</sup>, P. Expert<sup>1,2,3</sup>, F. Didelot<sup>1,2,3</sup>, V. Caffier<sup>1,2,3</sup>, T. Leroy<sup>1,2,3</sup>, M. Sannier<sup>1,2,3</sup>, B. Le Cam<sup>1,2,3</sup>, C. Lemaire<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>IRHS / INRA, Equipe EcoFun (Écologie Évolutive des Champignons), 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé

<sup>2</sup>IRHS / Université d'Angers, 2 bd Lavoisier, 49045 Angers

<sup>3</sup>IRHS/ Agrocampus-Ouest, 2 rue André le Notre, 49045 Angers

Les maladies fongiques ont un impact important sur les grandes cultures utiles à notre alimentation. Les champignons phytopathogènes représentent près d'un tiers des maladies émergentes<sup>1</sup>. Afin de réduire l'apport massif de produits phytosanitaires et de gérer la durabilité des productions agricoles, il est nécessaire d'étudier de manière intégrative les dynamiques par lesquelles les pathogènes s'adaptent à leur nouvel environnement lors de la domestication. La domestication des plantes implique l'accumulation de changements adaptatifs liés à la sélection anthropique de caractères d'intérêts agronomiques. Ainsi, on peut s'interroger sur la possibilité que ces adaptations aient un impact fort sur les populations de pathogènes, et notamment sur leurs capacités à s'adapter aux caractéristiques des agro-écosystèmes<sup>2</sup>. Nous étudions ici l'impact de la domestication du pommier sur les traits d'histoire de vie de son pathogène, la tavelure. Notre objectif est de déterminer s'il existe des différences phénotypiques entre deux populations divergentes de *Venturia inaequalis* : une population isolée sur les pommiers sauvages situés dans les forêts kazakhes (CAM) et une population provenant du compartiment « domestique » situé en plaine (CAP). Une première analyse phénotypique a démontré que la domestication du pommier a induit une différenciation du pouvoir pathogène entre les deux populations : un gain de virulence et d'agressivité<sup>3</sup>. Les différentes variables phénotypiques testées sont le taux de sporulation, la croissance mycélienne, la taille des spores ainsi que le taux de sporulation. Les résultats indiquent des déplacements de caractère significatifs sur le taux de sporulation et la taille des spores. On observe une augmentation de ces deux caractères liés à la dispersion chez les souches de la population CAP. Ces résultats montrent donc qu'il existerait bien un effet indirect de la domestication du pommier sur la dynamique adaptative de *V. inaequalis* dans les agro-écosystèmes. Notre étude a permis de mettre en évidence une divergence phénotypique entre les populations CAP et CAM de *V. inaequalis* due à la domestication de son hôte. Une approche complémentaire en génomique comparative nous permettra d'identifier les régions génomiques impliqués dans ces déplacements de caractère.

<sup>1</sup>Giraud T, Gladieux P, Gravilets S, 2010. *Trends in Ecology & Evolution* 25, 387-395.

<sup>2</sup>Stukenbrock E, McDonald B, 2008. *Annual Review of Phytopathology* 46, 75-100.

<sup>3</sup>Lê Van A *et al.*, 2012. *Evolutionary Applications* doi:10.1111/j.1752-4571.2012.00246.x

*Mots-clés* : *Venturia inaequalis*, domestication, Kazakhstan, émergence, comparaison phénotypique

## Structure génétique spatiale de la truffe noire du Périgord (*Tuber melanosporum*) dans une plantation productive analysée par marqueurs microsatellites et les gènes de compatibilité sexuelle

C. Murat<sup>1</sup>, H. de la Varga<sup>1</sup>, E. Akroume<sup>1</sup>, F. Le Tacon<sup>1</sup>, C. Robin<sup>2</sup>, F. Halkett<sup>1</sup>, F. Martin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR1136 INRA/Université de Lorraine, "Interactions Arbres/Micro-organismes", lab of excellence ARBRE, INRA Nancy, 54280 Champenoux, France

<sup>2</sup>Université de Lorraine – INRA, UNR 1121 Agronomie et Environnement Nancy-Colmar, BP 172, 54505 Vandœuvre-les-Nancy Cedex, France

Les truffes sont des champignons ascomycètes appartenant au genre *Tuber* et formant des associations ectomycorrhiziennes avec les arbres et les arbustes. Parmi la centaine d'espèces de truffes existant dans le monde, la truffe noire du Périgord (*Tuber melanosporum* Vittad.) est une des espèces les plus appréciées à cause de ces qualités organoleptiques. Afin de mieux comprendre la biologie et l'évolution de cette truffe, son génome a été récemment séquencé grâce aux efforts du *Tuber Genome Consortium* et du Génoscope. Ces données génomiques ont permis de caractériser des marqueurs microsatellites très polymorphes. La truffe noire est une espèce hétérothallique et les gènes de compatibilité sexuelle (*mating type*) ont aussi été identifiés. Cette étude a pour objectif de mieux connaître 1) la structure génétique au sein d'une truffière productrice; 2) la dynamique des génotypes et 3) la distribution des génotypes des deux types sexuels. Pour mener à bien cette analyse une plantation truffière située à Rollainville (Vosges) a été sélectionnée. Des fructifications, des ectomycorhizes et du sol ont été échantillonnés et cartographiés pendant deux saisons de production au niveau du brûlé de deux noisetiers et d'un chêne (~50 m<sup>2</sup>). Le génotypage a été effectué en combinant 10 marqueurs microsatellites et le locus qui détermine le type de compatibilité sexuelle. Nous avons observé une grande diversité avec de nombreux génotypes (10 en 2010-2011 et 13 en 2011-2012) de petite taille puisque la plupart font moins de 2 m<sup>2</sup>. Seule trois génotypes ont été retrouvés les deux saisons de récolte. La répartition, au niveau du système racinaire, des individus de *T. melanosporum* en fonction de leur gène de compatibilité sexuel est non aléatoire. Une division claire et stable pendant deux ans a été observée avec deux zones distinctes comprenant plusieurs génotypes du même type sexuel. Ce résultat suggère une compétition pour la colonisation du système racinaire en fonction du type sexuel. Par contre, dans les échantillons de sol, il a été possible d'identifier les deux types sexuels dans la plupart des échantillons. En conclusion, cette étude démontre que les truffières sont des écosystèmes dynamiques avec un renouvellement des individus suggérant que la truffe investie préférentiellement dans la reproduction sexuée pour sa dissémination. Ces résultats ont des implications pratiques pour les trufficulteurs et la gestion des truffières.

*Mots-clés* : *Tuber melanosporum*, ectomycorhizes, structure génétique, compatibilité sexuelle

## Évolution et adaptation du système de détoxification de *Trametes versicolor*, un champignon dégradant le bois

A. Deroy<sup>1,2</sup>, P. Gérardin<sup>3</sup>, M. Morel-Rouhier<sup>1,2</sup>, F. Martin<sup>2</sup>, E. Gelhaye<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Université de Lorraine, Interactions Arbres - Microorganismes, UMR1136, F-54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France.

<sup>2</sup>INRA, Interactions Arbres - Microorganismes, UMR1136, F-54280 Champenoux, France.

<sup>3</sup>Université de Lorraine, LERMAB, UMR1136, F-54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France.

Le bois représente une des ressources en polymère les plus abondantes de l'écosystème terrestre. Certains champignons, appartenant notamment aux Agaricomycota, possèdent la capacité de dégrader et de minéraliser complètement le bois. Ils jouent un rôle important dans le cycle du carbone et présentent un fort intérêt au niveau biotechnologique en particulier pour la production d'enzymes. Les systèmes enzymatiques extracellulaires impliqués dans la dégradation du bois sont en effet très divers, cette diversité étant en adéquation avec la grande hétérogénéité du substrat bois<sup>1</sup>. De plus, lors de la dégradation du bois, un grand nombre de composés potentiellement toxiques sont générés et pris en charge par différents systèmes enzymatiques intracellulaires. L'objectif principal de cette étude est de caractériser le polymorphisme intraspécifique chez différentes souches de *Trametes versicolor*, champignon capable de dégrader le bois en focalisant notamment sur les systèmes de dégradation extracellulaires et de détoxification intracellulaires. Une dizaine d'isolats de *T. versicolor* ont été sélectionnés en fonction de leur zone géographique (Europe, Amérique du nord, Nouvelle-Zélande) et de leur habitat d'origine (essence d'arbre). Ils ont été analysés par divers tests phénotypiques : croissance sur milieu riche et minimal, dégradation de différentes essences (hêtre, chêne aubier, chêne duramen et épicéa) selon une méthodologie dérivée de la norme EN113, analyse d'activités enzymatiques (cellulases, hémicellulases, peroxydases,...) sécrétées lors de la dégradation du chêne. L'ensemble de ces analyses a mis en évidence un polymorphisme important entre les souches étudiées, polymorphisme confirmé par une analyse protéomique des sécrétomes des différentes souches colonisant du chêne aubier. Ce polymorphisme est corrélé à l'habitat d'origine des souches (hêtre, chêne). Le séquençage des génomes des différentes souches est en cours et devrait permettre de connecter variabilité génomique et variabilité phénotypique dans le but d'identifier les facteurs responsables de l'adaptation de *Trametes versicolor* à la dégradation du bois.

<sup>1</sup>Mathieu Y *et al.*, 2012. *Journal of Microbiological Methods* 92, 157-163.

<sup>2</sup>Morel M *et al.*, 2013. *Microbial Biotechnology* 6, 248-263.

*Mots-clés* : *Trametes versicolor*, polymorphisme

## Adaptation of poplar rust to the poplar varietal landscape

K. J. Hayden, B. Fabre, F. Halkett, P. Frey

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

The breakdown of host resistance to plant pathogens is of critical concern in agriculture, forestry, and the management of natural systems. Evolution of the fungal poplar rust pathogen *Melampsora larici-populina* has been shown to have been dramatically influenced by the deployment of resistance genes in commercial poplar plantations, with pathogen populations swamped by virulent genotypes<sup>1</sup>. The deployment and subsequent breakdown of resistance genes in poplar plantations provide an experimental system for understanding the dynamics of pathogen evolution in response to resistance breeding, which will be critical to formulating effective management strategies in the future. We describe a combined retrospective and prospective approach, integrating population genomics, landscape epidemiology and evolution of life history traits of the poplar rust fungus. First, the records of poplar genotypes deployed across France over the last 17 years, along with genotypes of *M. larici-populina* collected across France, have been used to make overlaying maps of host and pathogen resistance and virulence genotypes. We demonstrate that the virulence landscape continues to be dominated by the sweep described by Xhaard, with regions heavily planted with poplar resistance type R7 continuing to be dominated by the corresponding virulence type, along with virulence types that “hitch-hiked” across the landscape during the original sweep. These genotypes persist, despite a reduction in planting of R7, and a near-absence of resistance types corresponding to the hitchhikers. In addition, the beginnings of a new sweep are emerging in regions in which a recently overcome resistance type (R8) has been more widely planted. We additionally describe plans to, using the information learned from objective 1, and with experimental tests of trade-offs in pathogen virulence, reproduction, and spread in response to quantitative resistance (resistance measured by degree), forecast the ability of the pathogen to evolve resistance to the future deployment of quantitative resistance types. These forecasts will provide a framework for the future management of poplar and other forest plantations, and will also provide testable hypotheses with which to continue to improve the understanding of host-pathogen coevolution as a whole.

<sup>1</sup>Xhaard C *et al.*, 2011. *Molecular Ecology* 20, 2739-2755.

*Key words*: landscape genetics, durable resistance, pathogen evolution

### Diversité génétique au sein de la forme spéciale *cyclaminis* de *Fusarium oxysporum* et recherche d'un marqueur spécifique

C. Lecomte<sup>1</sup>, V. Edel-Hermann<sup>2</sup>, A. Langlois<sup>3</sup>, N. Gautheron<sup>2</sup>, C. Alabouvette<sup>4</sup>, F. Robert<sup>1</sup>, C. Steinberg<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Astredhor, 44 rue d'Alésia, 75682 Paris Cedex 14, France

<sup>2</sup>INRA Dijon, UMR 1347 Agroécologie, Pôle IPM, 17 rue Sully BP 86510 21065 Dijon Cedex, France

<sup>3</sup>Arexhor Seine-Manche, 22 rue de Normandie, 76640 Fauville en Caux, France

<sup>4</sup>Agrene, 47 rue Constant Pierrot, 21000 Dijon, France

Le cyclamen est la 3<sup>e</sup> plante fleurie la plus vendue en France. Une des maladies dommageables de cette culture est la fusariose, causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* (FoCy). Cette forme spéciale, inféodée au cyclamen n'est pas différenciable des autres formes spéciales et souches saprophytes. En se développant dans le xylème, FoCy entraîne la mort de la plante. Quand les symptômes externes apparaissent, la plante est condamnée. La lutte chimique est inefficace, la lutte variétale est inexistante, et les mesures prophylactiques sont difficilement applicables. Pour détecter le pathogène précocement et améliorer la lutte, nous nous sommes intéressés à sa diversité génétique. Pour cela, une collection de souches regroupant des souches de FoCy issues de collections et des souches identifiées comme *Fusarium* sp. isolées de cyclamen malades a été constituée. La diversité génétique de cette collection a été caractérisée par séquençage de régions polymorphes d'ADN. D'autres formes spéciales de l'espèce, d'autres *Fusarium* sp. et d'autres champignons telluriques ont été rassemblées dans cette collection. Six groupes de souches pathogènes génétiquement différents se distinguent dans cette population. Les 4 groupes de compatibilité végétative (VCG) déjà décrits sont présents dans un seul groupe. Bien que la pathogénicité de tous les isolats ne soit pas encore vérifiée, chacun des groupes contient au moins une souche pathogène. Par conséquent, il existerait au moins 5 VCG. En outre, si des isolats se révélaient non pathogènes, cela signifierait que des souches pathogènes et non pathogènes d'un groupe sont plus proches que des souches pathogènes de groupes différents. Le problème posé par cette diversité a déjà été rencontré pour d'autres formes spéciales. Des événements génétiques indépendants ont certainement donné naissance à ces groupes et au caractère pathogène ou saprophyte. Quels sont-ils? Qu'elle en est l'origine? Il apparaît que la diversité génétique de FoCy est plus grande que celle connue, d'où la nécessité d'identifier un marqueur moléculaire spécifique par RAPD-SCAR (Random Amplified Polymorphic DNA-Sequenced Characterized Amplified Region). La RAPD a déjà permis d'apporter des réponses pour d'autres formes spéciales comme *batatas*, *chrysanthemi* et *vasinfectum*. En la couplant au SCAR, on s'affranchit du manque de reproductibilité de la RAPD. Cette approche devrait fournir le marqueur commun et spécifique, au-delà de cette diversité intra spécifique.

Assigbetse KB, Fernandez D, Dubois MP, Geiger JP, 1994. *Phytopathology* 6, 622-626.

Elmer WH, 2002. *Plant Disease* 86, 389-393.; Elmer WH, McGovern RJ, 2004. *Crop Protection* 23, 909-914.

Lori GA et al., 2012. *Crop Protection* 36, 43-48; Nelson AJ et al., 1997. *Phytopathology* 12, 1220-1225.

Orlicz-Luthardt A., 1997. International Symposium, Nov. 1997, Germany.

Pasquali M et al., 2003. *Journal of Phytopathology* 151, 30-35.

Rodríguez-Molina MC et al., 2013. *European Journal Plant Pathology* 136, 639-650.

Woudt LP et al., 1995. *Phytopathology* 85, 1348-1355.

*Mots-clés* : fusariose, cyclamen, diversité, détection, marqueur moléculaire



**Incursion of a new aggressive *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* race in Syria and Lebanon in 2010-2011**

R. El Amil<sup>1,2,5</sup>, M. Leconte<sup>2</sup>, S. Ali<sup>2</sup>, M. Hovmøller<sup>3</sup>, A. Yahyaoui<sup>4</sup>, C. de Vallavieille-Pope<sup>2</sup>, K. Nazari<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Lebanese Agricultural Research Institute (LARI), 287 Zahleh, Bekaa, Lebanon

<sup>2</sup>INRA UR1290 BIOGER-CPP, BP01, F-78850 Thiverval-Grignon, France

<sup>3</sup>Department of Agroecology, Aarhus University, Forsøgsvej 14200, Slagelse, Denmark, <sup>4</sup>CIMMYT, Apdo. Postal 06600, Mexico D.F., Mexico

<sup>5</sup>ICARDA, Izmir, Turkey

Stripe (yellow) rust is the most important disease of wheat in the Central, West Asia and North Africa (CWANA) region. Severe epidemics in 2010 caused more than 30% yield losses in Syria, and similar losses could have occurred in Turkey, Uzbekistan and Iraq. Extensive field surveys were conducted in major bread and durum wheat areas in Syria in 2011 using the BGRI surveillance protocols. Stripe rust was present in wheat growing areas in northern, northeastern, and eastern parts of the country. A total 223 samples were collected from 61 fields from which 55 isolates were used in seedling race analysis. A sub-set of Avocet-based differential lines, Avocet *YrA*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr15*, *Yr17*, *Yr25*, *Yr27* and *Yr32*, was used as a supplementary set to the world and European sets<sup>1</sup> (de Vallavieille-Pope et al., 2012). The analysis indicated virulence for the widely deployed resistance genes *Yr2*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9*, *Yr25* and *Yr27*. Resistance genes *Yr1*, *Yr4*, *Yr5*, *Yr10*, and *Yr15* were effective against all isolates. Virulence for *Yr3*, *Yr8*, *Yr17*, *YrSu*, *YrSD*, *YrSP*, and *Yr32* occurred at varying frequencies. Genotyping of 92 *Pst* isolates with 20 microsatellite markers<sup>2</sup> (Ali et al., 2011) showed that relatively few genotypes were in Syria in 2011. These genotypes were closely related to previously reported aggressive races with high temperature adaptation which are widespread worldwide since 2000<sup>3</sup> and were less diverse than the population sampled earlier in Middle East<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>de Vallavieille-Pope C et al., 2012. *Plant Disease* 96, 131-140.

<sup>2</sup>Ali S et al., 2011. *BMC Research Notes* 4, 240.

<sup>3</sup>Hovmøller MS et al., 2011. *Annual Review of Phytopathology* 49, 197-217.

<sup>4</sup>Bahri B et al., 2009. *Molecular Ecology* 18, 4165-4179.

**Keywords:** *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*, wheat, virulence, resistance genes

## Impacts de la reproduction et de la migration sur la structure génétique des populations d'ascochytose se développant sur les types hiverns et les types printemps de pois protéagineux

G. Laloi<sup>1</sup>, M. Guibert<sup>2,4</sup>, A. Baranger<sup>2,4</sup>, C. Le May<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup>INRA, Institut de Recherche en Horticulture et Semences, Equipe EcoFun et Respom, 42 rue Georges Morel BP60057, 49071 Beaucozéz

<sup>2</sup>INRA, UMR 1349 Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes (IGEPP), Domaine de la Motte, 35653 Le Rheu, France

<sup>3</sup>Agrocampus Ouest, 65 rue de Saint Briec, 35042 Rennes, France

<sup>4</sup>Université de Rennes I, 9 rue Jean Macé, 35700 Rennes, France

L'ascochytose, causée par le champignon nécrotrophe *Didymella pinodes* est responsable de dégâts importants à la fois sur les cultures de pois d'hiver et de pois de printemps. Le champignon possède différents moyens pour se maintenir dans le milieu (débris végétaux, repousse, hôtes alternatifs), et pour se disperser (splashing, dispersion anémophile)<sup>1</sup>. Peu d'études se sont intéressées aux populations du champignon responsable de la maladie sur ces deux types de culture. Une étude récente<sup>2</sup> montre que le développement épidémique (initiation, propagation) est lié à une même population de *D. pinodes* en situations de semis d'hiver ou de printemps, et ce malgré des conditions climatiques très différentes pendant le cycle. Les cultures de pois de printemps et de pois d'hiver sont caractérisées par une importante période de chevauchement (Mars-Juin) pouvant expliquer en partie l'homogénéité observée. Le maintien de la variabilité génétique suggère par ailleurs l'existence de flux de gènes entre les deux types culturels pendant la période d'interculture. A ce jour, aucune des études sur la structure génétique des populations de *D. pinodes* ne s'est intéressée aux processus régissant la structuration des populations du pathogène. Il apparaît indispensable d'acquérir des connaissances sur ce complexe parasitaire (biologique, physiologique et moléculaire) et sur les processus régissant la variabilité au sein de ces populations afin de proposer des outils et les connaissances pour optimiser le criblage des sources de résistance sur pois d'hiver. Pour cela, l'étude a été menée à trois niveaux sur des souches de *Dp* isolées tout au long d'une saison culturale sur ph et pp. Premièrement, la distribution spatiale de la maladie a été déterminée au niveau parcellaire à huit moments de la saison culturale. Par ailleurs, l'agressivité de 50 souches a été testée sur trois variétés de pois afin d'observer son évolution dans le temps et de déterminer la diversité phénotypique des souches. La diversité génétique a été déterminée en utilisant des marqueurs AFLP. Les résultats montrent que l'agressivité des souches au cours de la saison est plus forte sur ph que sur pp mais tend à rester constante voire diminuer sur ph alors qu'elle augmente sur pp. Cette différence entre ph et pp s'explique par (i) des conditions pédo-climatiques variables (ii) une durée et des surfaces de culture différentes. D'autre part, la distribution spatiale des souches au sein d'une parcelle de ph et de pp est homogène. En parallèle, l'analyse génétique des populations de *Dp* isolées sur ph et pp montre que la variabilité génétique est maintenue tout au long de la saison culturale. Deux facteurs générateurs de diversité sont suspectés : i) la reproduction sexuée ii) les flux migratoires liés aux allo-inocula.

<sup>1</sup>Tivoli B, Banniza S, 2007. *European Journal of Plant Pathology* 119, 59-76.

<sup>2</sup>Le May C et al., 2012. *Applied and Environmental Microbiology* doi:10.1128/AEM.01543-12

## **Facteurs de diversification chez *Botrytis cinerea* : Comment faire de la recombinaison sans sexe ?**

**C. Leyronas**, M. Duffaud, M. Bardin

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

*Botrytis cinerea* est un champignon phytopathogène présentant une forte diversité génétique. En conditions favorables, il se multiplie par reproduction asexuée et produit des conidies permettant sa dissémination aérienne. Il possède également une forme parfaite, *Botryotinia fuckeliana*, pouvant faire de la reproduction sexuée. Cependant ses formes de reproduction sexuée (apothécies) ne sont qu'exceptionnellement, voire jamais, observées dans la nature. Pourtant les études de génétique des populations montrent une part de recombinaison (déséquilibre de liaison faible) dans bon nombre de populations de *B. cinerea* échantillonnées<sup>1</sup>. Nous testons l'hypothèse de l'existence d'une parasexualité comme facteur de recombinaison et donc de diversification de *B. cinerea*. Pour cela, à partir de mélanges de souches réalisés sur eau gélosée, nous avons recherché la formation de CAT (conidial anastomosis tube) entre tubes germinatifs et comparé les profils haplotypiques et l'agressivité entre souches mères et souches filles (souches isolées à partir de ces mélanges). En plaçant des conidies de souches différentes pendant 24h sur eau gélosée nous avons observé en microscopie optique la formation de CAT entre tubes germinatifs. Ces événements de fusion entre tubes germinatifs peuvent permettre l'échange de noyaux<sup>2</sup> et constituent donc une première étape mécanique vers une éventuelle recombinaison. Nous avons isolé des individus au hasard à partir de colonies issues du mélange de 2 ou 3 souches (7 souches assemblées dans 23 mélanges). Ces individus ont été génotypés à l'aide de 9 marqueurs microsatellites<sup>3</sup>. Les profils haplotypiques de 10 souches filles (sur 92 filles testées) différaient de ceux de leurs souches mères par plusieurs microsatellites. Enfin, nous avons comparé l'agressivité de ces souches filles « variantes » sur tomate, laitue et pomme. Dans plusieurs cas, l'agressivité des souches filles étaient significativement différente de celle des souches mères. Le cas le plus marquant étant celui de deux souches mères peu agressives, produisent une souche fille beaucoup plus agressive. Les premiers résultats obtenus dans cette étude vont dans le sens de l'existence d'évènements de parasexualité comme moteur de diversification génétique chez *B. cinerea*. Les expériences seront réitérées *in planta* dans des conditions proches d'une infection naturelle.

<sup>1</sup>Walker AS, 2013. Thèse de doctorat, p 51-85

<sup>2</sup>Roca G *et al.*, 2012. *Fungal Biology* 116, 379-387

<sup>3</sup>Fournier E *et al.*, 2002. *Molecular Ecology* 11, 253-255

*Mots clés* : diversité, anastomose

**Agressivité et évolution des populations de *Phytophthora infestans*****N. Mariette, J. Montarry, R. Corbière, D. Andrivon**

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

L'oomycète *Phytophthora infestans*, responsable du mildiou, est un des agents pathogènes les plus préoccupants de la pomme de terre. Ce parasite biotrophe affecte les feuilles, les tiges et les tubercules, et entraîne ainsi des pertes agronomiques considérables. *P. infestans* est une espèce hétérothallique qui a un cycle de vie principalement aérien, comportant une phase épidémique durant la période de culture de l'hôte et une phase de survie entre deux épidémies. Sous un climat tempéré comme en France, *P. infestans* survit principalement sous forme de mycélium dans des tubercules infectés, pour constituer l'inoculum primaire de l'épidémie suivante à partir des repousses qui émergent. La structure des populations européennes de *P. infestans* est fréquemment modifiée, notamment depuis les années 1990, et les processus impliqués dans ces profonds changements ne sont toujours pas clairement établis. L'agressivité, qui se définit comme la quantité de symptômes qu'un pathogène provoque sur son hôte, est souvent évoquée pour tenter d'expliquer la réussite d'une souche à s'installer et se répandre au sein d'une population. Ainsi, pour certains auteurs, les souches de *P. infestans* possédant une meilleure fitness et qui sont donc sélectionnées dans les populations sont celles présentant un haut niveau d'agressivité. Cependant, certains résultats semblent contredire cette hypothèse en montrant notamment que les souches les plus agressives souffrent d'une plus faible transmission entre deux épidémies. L'objectif de cette étude était d'étudier le lien entre l'évolution de la structure génétique des populations de *P. infestans* et l'agressivité des souches. Nous souhaitons ainsi tester les hypothèses évoquées pour expliquer les changements observés au sein des populations, à savoir une « sélection des souches les plus agressives » ou un « trade-off entre agressivité et transmission inter-saison ». Pour cela, nous avons utilisé et complété un jeu de données issu de souches françaises collectées entre 2004 et 2008. Ces souches ont été génotypées à l'aide de 10 marqueurs microsatellites et leur agressivité a été testée sur la variété Bintje. L'évolution de la structure des populations de *P. infestans* a ainsi été suivie pendant ces cinq années et permet d'apporter des éléments de réponse quant à la compréhension des changements périodiques de populations chez ce pathogène.

Andrivon D *et al.*, 2007. *Phytopathology* 97, 338-343.Cooke DEL *et al.*, 2012. *PLOS Pathogens* 8, 1-14.Montarry J, Corbière R, Andrivon D, 2007. *Functional Ecology* 21, 603-610.Gisi U *et al.*, 2011. *Journal of Phytopathology* 159, 223-232.Pasco C *et al.*, 2009. *PPO-Special Report* 13, 71-76.Mots-clés : *Phytophthora infestans*, mildiou, agressivité, marqueurs microsatellites, trade-off

## **Test de sensibilité de variétés clonales d'hévéa aux toxines secrétées par le champignon *Corynespora cassiicola***

M. Déon<sup>1,2</sup>, **D. M. Tran**<sup>1,3</sup>, A. Clément-Demange<sup>3</sup>, D. Bieysse<sup>3</sup>, R. R. Oliveira<sup>4</sup>, F. Breton<sup>3</sup>, S. Massey<sup>2</sup>, F. de Lamotte<sup>5</sup>, A. Clément-Vidal<sup>3</sup>, M. Seguin<sup>3</sup>, V. Pujade-Renaud<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>CIRAD, UMR-AGAP, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

<sup>2</sup>Clermont-Université, Université Blaise Pascal, UMR 547 PIAF, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

<sup>3</sup>CIRAD, UMR AGAP, F-34398 Montpellier, France

<sup>4</sup>Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Agronomia, Maringá, Pr; CEP 8702-900, Brazil

<sup>5</sup>INRA, UMR AGAP, F-34398 Montpellier, France.

*Hevea brasiliensis* est la seule source de caoutchouc naturel, agro-matériau utilisé principalement (70%) dans l'industrie du pneumatique. En Asie et en Afrique, l'hévéa est sensible à une maladie foliaire due au champignon *Corynespora cassiicola*. Ce champignon sécrète une toxine protéique, la cassiicoline, dont six isoformes différentes ont été identifiées<sup>1</sup>. L'isoforme Cas1, issue d'une souche très agressive originaire des Philippines (CCP), jouerait un rôle important en tant qu'effecteur de la maladie<sup>2-5</sup>. Dans un objectif de sélection précoce, une méthode d'évaluation au laboratoire de la sensibilité des clones à cette maladie a été mise au point, par application sur folioles détachées de la toxine Cas1 purifiée ou de filtrats de culture de différentes souches du champignon. La toxicité induite est quantifiée après 48 heures par des mesures portant d'une part sur le pourcentage de fuite d'électrolyte R (conductimétrie), et d'autre part sur la surface de nécrose S. On a étudié la réponse de 20 clones d'hévéa d'une part à quatre concentrations de la toxine (0, 1, 5 et 10 ng/μl), et d'autre part à 12 filtrats de culture de souches différentes (dont la souche CCP) et à un témoin CZ (milieu de culture Czapeck). Les mesures de R sont apparues beaucoup plus sensibles que celles de S. L'intensité des symptômes augmente avec la concentration de la toxine, sans effet d'interaction entre clones et concentrations (hors témoin 0). Les profils de sensibilité des clones en réponse à la toxine Cas1 purifiée ou au filtrat CCP sont globalement les mêmes, renforçant l'idée que la toxine Cas1 serait le déterminant majeur de la toxicité du filtrat CCP. Un effet d'interaction entre clones et filtrats de culture a été mis en évidence, notamment entre les 4 filtrats les plus agressifs : CCP, CSRI5, CIND3 et CTHA3, avec des sensibilités différentes des clones selon les filtrats. Les classements de sensibilité des clones selon ce test ne rendent cependant compte que partiellement des comportements en champ. Il est donc nécessaire de poursuivre cette recherche, notamment par la caractérisation d'autres effecteurs que Cas1.

<sup>1</sup>Déon M *et al.*, 2013. *Fungal Biology* doi:10.1016/j.funbio.2013.10.011.

<sup>2</sup>Barthe P *et al.*, 2007. *Journal of Molecular Biology* 367, 89-101.

<sup>3</sup>de Lamotte F *et al.*, 2007, *Journal of Chromatography B*. 849, 357-362.

<sup>4</sup>Déon M *et al.*, 2012a. *Plant Science* 185-186, 227-237 <sup>5</sup>Déon M *et al.*, 2012b. *Fungal Diversity* 54, 87-99.

**Mots-clés :** *Corynespora cassiicola*, *Hevea brasiliensis*, cassiicoline, effecteur de maladie, test toxinique, conductimétrie

**Patrons biogéographiques et structure génétique à grande échelle du complexe d'espèces ectomycorhizien *Laccaria amethystina***

L. Vincenot<sup>1,2,3</sup>, F. Richard F<sup>1</sup>, F. Laso<sup>1</sup>, M. Sauve<sup>1</sup>, J.-B. Le Floch<sup>1</sup>, **M.-A. Selosse**<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>CEFE – Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive, Campus CNRS, 1919 route de Mende. 34293 Montpellier Cedex 5, France.

<sup>2</sup>CREAF – Centre de Recerca Ecològica i Aplicacions Forestals, Universitat Autònoma Barcelona, Campus Bellaterra. 08193 Cerdanyola del Vallès, Espagne.

<sup>3</sup>CIFOR – Centro de Investigación Forestal, INIA, Ctra. de la Coruña km. 7,5. 28040 Madrid, Espagne.

<sup>4</sup>Muséum d'Histoire Naturelle, Département Systématique et Evolution, 12/16 rue Buffon. 75005 Paris, France.

Le complexe d'espèces ectomycorhizien *Laccaria amethystina* est associé à une grande variété d'arbres-hôtes des forêts tempérées du continent eurasiatique. Ses populations européennes sont panmictiques, les flux génétiques y étant favorisés par le caractère généraliste de l'association symbiotique de *L. amethystina* avec ses hôtes, et les capacités de dispersion des spores<sup>1,2</sup>. Mais l'aire de distribution eurasiatique couvre des environnements et paysages contrastés, qui pourraient avoir favorisé la divergence génétique des populations par un phénomène d'isolement par la distance ou par une spéciation allopatrique<sup>1</sup>. Afin d'étudier la démographie et l'histoire du complexe d'espèces, nous avons examiné la structure génétique spatiale, les flux génétiques et les relations phylogénétiques de 11 populations d'Europe de l'Ouest, Chine et Japon à l'aide de marqueurs microsatellites ou de séquences. Nos analyses des données microsatellites ont distingué trois groupes génétiques coïncidant avec leur origine géographique, confirmés par la phylogénie. Nous avons observé des niveaux de divergence semblables entre les trois groupes géographiques qu'un isolement par la distance ne suffit pas à expliquer, suggérant une spéciation allopatrique liée au paysage ou à d'autres facteurs environnementaux. Enfin, la diversité génétique des populations de Chine suggère des ressources génétiques anciennes et une possible expansion des populations depuis cette origine géographique.

<sup>1</sup>Vincenot L *et al.*, 2012. *Molecular Ecology* 21, 281-299.

<sup>2</sup>Roy M *et al.*, 2008. *Molecular Ecology* 17, 2825-2838.

*Mots-clés* : symbiose ectomycorhizienne, diversité génétique, phylogéographie, spéciation allopatrique

**Posters**

***Session 2***

**Génomique des champignons**

## Functional analysis of secondary metabolism gene clusters expressed in fungal appressoria

J.-F. Dallery, M.-H. Lebrun, R. O'Connell

UMR1290 BIOGER-CPP, INRA-AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval-Grignon,

Species of the genus *Colletotrichum* cause devastating anthracnose or blight diseases on numerous crop plants worldwide. These pathogens use a hemibiotrophic infection strategy that involves the formation of specialized cell-types for initial penetration (appressoria), growth inside living cells (biotrophic hyphae) and tissue destruction (necrotrophic hyphae). The interaction between *C. higginsianum* and *Arabidopsis* provides an attractive model for studying the molecular basis of hemibiotrophy in which both partners can be genetically manipulated. The genome of *C. higginsianum* contains an unusually large number of genes encoding enzymes involved in secondary metabolism (SM) compared to other hemibiotrophs (e.g. *Magnaporthe*, *Fusarium*) and necrotrophs (e.g. *Botrytis*, *Stagonospora*). In particular, genes encoding terpene synthase, polyketide synthases and dimethyl-allyltransferases are all expanded in *C. higginsianum*. As in other fungi, the key enzyme genes are organized into clusters that also contain genes encoding accessory enzymes of the same biosynthetic pathway, efflux transporters and pathway-specific transcription factors. In *C. higginsianum*, 47 such clusters were identified to date. A remarkable finding from RNA-Seq transcriptome profiling was that 17 SM clusters are specifically expressed only *in planta* by appressoria and biotrophic hyphae. Since each cluster potentially synthesizes one metabolite, this suggests appressoria and biotrophic hyphae deliver a cocktail of different metabolites to the first infected host cell. At this early stage host cells remain alive, raising the possibility that these molecules function similar to protein effectors in host manipulation, rather than as simple phytotoxins. Work is ongoing to decipher how the expression of these SM gene clusters is so precisely regulated during the course of infection (e.g. transcription factors or chromatin remodelling), with a view to inducing the fungus to synthesize these compounds in large quantities in culture. The aim is to obtain sufficient material for identification and structural determination (mass spectrometry, NMR) and for functional assays to evaluate biological activities against plants, bacteria and fungi.

O'Connell R *et al.*, 2012. *Nature Genetics* 44, 1060-1067.

**Keywords:** *Colletotrichum higginsianum*, anthracnose, secondary metabolism, biotrophy



### Sclerodermataceae: comparative genomics and mycorrhiza formation

M. de Freitas Pereira<sup>1,2</sup>, E. Morin<sup>2</sup>, J. Plett<sup>3</sup>, M. Dutra Costa<sup>1</sup>, A. Kohler<sup>2</sup>, I. Grigoriev<sup>4</sup>, F. Martin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiologia, Campus Universitário, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, Brazil

<sup>2</sup>Institut National de la Recherche Agronomique, Unité Mixte de Recherche 1136, Interactions Arbres/Microorganismes, Centre de Nancy, Université de Lorraine, 54280 Champenoux, France

<sup>3</sup>Hawkesbury Institute for the Environment, University of Western Sydney, Richmond, NSW, Australia 2753

<sup>4</sup>US Department of Energy Joint Genome Institute, 2800 Mitchell Drive, Walnut Creek, CA 94598, USA

The Sclerodermataceae are a family of fungi in the order of Boletales, widespread in both temperate and tropical regions and capable to form of ectomycorrhiza (ECM) with several forest tree species. They easily grow and form mycorrhiza *in vitro*. *Pisolithus tinctorius* and *Pisolithus microcarpus* species are typically one of the most frequent fungi to colonize pines and eucalypts, respectively, and both economically important as inoculums in forestry. *Scleroderma citrinum* is an early stage fungus, primary colonizer of mining waste, which enables it to spread rapidly and to colonize young root systems of numerous tree species. Recently, the Joint Genome Institute (JGI) finished the genome sequencing of these three Sclerodermataceae: *P. microcarpus* (53Mb), *P. tinctorius* (71Mb) and *S. citrinum* (56Mb). For *P. microcarpus*, 21 064 gene models were annotated, for *P. tinctorius* 22 701 and for *S. citrinum* 21 012. The main genomic features of these fungi and the comparison of their genomes to other Boletales and other ectomycorrhizal genomes will be presented. In order to understand mycorrhiza development in this family and their differences in host specificity, we started a transcriptome project to compare mycorrhization of these three fungi with the same host plant, the model tree Poplar. A RNA-Seq approach will allow us to monitor changes in gene expression in fungi and host plant. Preliminary results will be presented.

*Keywords:* Sclerodermataceae, ectomycorrhiza, transcriptomics, comparative genomics

**Adaptation métabolique et pouvoir pathogène des oomycètes: expression spatio-temporelle et subfonctionnalisation des glucokinases de *Phytophthora parasitica***

M.-L. Kuhn<sup>1</sup>, J.-Y. Le Berre<sup>1</sup>, M. Lemaire<sup>2</sup>, F. Panabières<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR-Institut Sophia Agrobiotech, INRA 1355 - CNRS 7254 - Université Nice-Sophia Antipolis, 06903 Sophia Antipolis, France.

<sup>2</sup>Génétique Moléculaire des Levures, UMR5240 Microbiologie, Adaptation et Pathogénie, Université de Lyon, Lyon, France; Université Lyon1, Lyon, France; and CNRS, Villeurbanne, France

Nos recherches visent à caractériser les mécanismes moléculaires qui régissent le pouvoir pathogène des oomycètes du genre *Phytophthora*, microorganismes hémibiotrophes particulièrement ravageurs en agriculture, en particulier *P. parasitica*, espèce tellurique capable d'attaquer > 200 hôtes ligneux ou herbacés. Le succès parasitaire de l'agent pathogène est conditionné par ses capacités adaptatives, notamment en réponses aux modifications de son environnement. Nous avons abordé, à travers une approche transcriptomique, l'analyse des changements métaboliques se produisant au cours du développement. L'annotation manuelle de plusieurs banques d'ESTs, générées à partir de cultures mycéliennes en croissance végétative ou soumises à des stress abiotiques, ainsi qu'à partir de plantes infectées, nous a permis de montrer que *P. parasitica* possède trois glucokinases et une fructokinase pour initier la glycolyse. Contrairement aux hexokinases à large spectre de substrat présentes chez la grande majorité d'eucaryotes, ces enzymes ne sont capables de phosphoryler que le glucose et le fructose, respectivement. Une analyse de génomique comparative indique que l'expansion des gènes codant pour les glucokinases a précédé la radiation de *Phytophthora*, et ne concerne que ce genre au sein des oomycètes. Les glucokinases (GK) diffèrent entre elles par leurs caractéristiques enzymatiques, leur localisation subcellulaire potentielle, et l'expression de leurs mRNAs respectifs, au cours du cycle biologique de l'agent pathogène, mais également en réponse à la nature et à la concentration d'hexose dans le milieu. Ainsi GK1 est très fortement induite au stade unicellulaire de *P. parasitica* (zoospores et cystes). GK2 est surexprimée au cours de l'infection d'une plante hôte, tandis que l'expression préférentielle de GK3 semble une caractéristique de la croissance végétative *in vitro*. Ces différences spatio-temporelles d'expression et les caractéristiques propres de chaque glucokinase suggèrent fortement un mécanisme de divergence fonctionnelle (subfonctionnalisation) au sein de cette famille de protéines.

*Mots-clés* : adaptation métabolique, *Phytophthora*, glucokinase, subfonctionnalisation, expression différentielle

## Disentangling mycotoxin regulatory pathways in *Fusarium graminearum* by quantitative genetics

B. Laurent, N. Ponts, V. Atanasova-Pénichon, C. Barreau, M. Foulongne-Oriol

INRA, UR 1Z64 MycSA Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France

*Fusarium graminearum* provoque la fusariose de l'épi affectant de nombreuses cultures céréalières. Il produit de multiples mycotoxines, dont le déoxynivalénol (DON) avec des formes acétylées associées (15-ADON ou 3-ADON) dont les pouvoirs pathogènes ont été démontrés chez le blé<sup>1</sup>. De plus, ces mycotoxines s'accumulent dans les grains, entraînant une perte économique depuis qu'une régulation Européenne vise à limiter la concentration en toxines dans les grains destinés à l'alimentation humaine<sup>2</sup>. La voie de biosynthèse du déoxynivalénol et de ses formes acétylées est bien décrite<sup>3</sup> cependant le déterminisme génétique à l'origine de la variation du niveau de production de toxines reste largement inconnu. Afin d'analyser ce contrôle génétique, une approche de génétique quantitative a été initiée afin de localiser des régions génomiques de *Fusarium graminearum* potentiellement responsables de la variation quantitative (QTL) de la production de toxines, leurs effets respectifs et leurs possibles interactions. Ici nous avons utilisé la descendance créée par Gale et ses collaborateurs pour la création de la carte génétique de référence de cette espèce<sup>4</sup> pour réaliser une première détection de QTLs influençant la biomasse, la sporulation et la production de DON et de ses formes acétylées. Cette approche innovante tend à confirmer l'existence de facteurs génétiques régulant quantitativement la production de mycotoxines, amenant à de nouvelles perspectives sur la caractérisation de marqueurs moléculaires liés au niveau de production de mycotoxines chez *Fusarium graminearum*.

<sup>1</sup>Brown NA *et al.*, 2012. *PloS ONE* 7 :e33731.

<sup>2</sup>CE N°1881/2006. JO L. 364 du 20.12.2006, p. 5.

<sup>3</sup>Kimura M *et al.*, 2003. *FEBS Letters* 539, 105-110.

<sup>4</sup>Gale LR, 2005. *Genetics* 171, 985-1001.

*Mots-clés* : *Fusarium graminearum*, mycotoxin, QTL, quantitative genetics, genetic factor

## Rôle d'une flavoprotéine dans la biogénèse pariétale chez le champignon phytopathogène *Alternaria brassicicola*

S. Pigné<sup>1</sup>, A. Zykwinska<sup>2</sup>, S. Cuenot<sup>2</sup>, M. Kerkoud<sup>1</sup>, A. Joubert<sup>1</sup>, P. Simoneau<sup>1</sup>, T. Guillemette<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université d'Angers, UMR 1345 IRHS, SFR QUASAV, 2 Bd Lavoisier, Angers cedex F-49045, France

<sup>2</sup>Institut des Matériaux Jean Rouxel, UMR 6502, 2, rue de la Houssinière, BP 32229 44322 Nantes cedex 3

*Alternaria brassicicola* est un champignon nécrotrophe responsable de la maladie des taches noires des crucifères. Dans le cadre de son interaction avec la plante hôte, nous nous intéressons aux mécanismes de protection mis en place par ce champignon contre certains composés de défense synthétisés par les Brassicacées, tels que la camalexine, principale phytoalexine produite par *Arabidopsis thaliana*. Le gène *AbMak1* a été caractérisé comme étant surexprimé chez *A. brassicicola* lors de l'exposition à la camalexine<sup>1</sup>. Il code une flavoprotéine monooxygénase de fonction inconnue qui présente de fortes homologies avec une enzyme produite par le champignon phytopathogène *N. haematococca*, permettant la détoxification de la phytoalexine maackiaine par déshydrogénation. Nous avons émis l'hypothèse qu'AbMAK1 pourrait également être impliquée dans la métabolisation de la camalexine. Un mutant nul  $\Delta AbMak1$  déficient pour cette protéine a été généré chez *A. brassicicola*. Il présente un comportement ambigu vis à vis de la camalexine : il est tolérant en milieu solide et hypersensible en milieu liquide. D'autre part, il n'est pas affecté dans ses capacités pathogéniques, ce qui semble réfuter l'hypothèse d'une implication directe dans la métabolisation des phytoalexines. Ce mutant différencie par contre des conidies de coloration moins intense que celles de la souche sauvage suggérant une anomalie de la pigmentation et notamment de la mélanisation des conidies. Des dosages de mélanines montrent effectivement un déficit chez la souche mutante par comparaison aux souches sauvages et complémentées. Des analyses de microscopie (MEB, MET et force atomique) mettent clairement en évidence une altération des parois du mutant nul qui se caractérise notamment par une forte diminution de l'hydrophilicité et de l'élasticité des parois. Nos résultats semblent donc suggérer un rôle de cette flavoprotéine dans la biosynthèse de la mélanine. La mélanisation des appressoria constituant un élément essentiel à sa fonction, nous pouvons émettre l'hypothèse que ces mutants, non affectés dans leur pouvoir pathogène, ont recours à d'autres mécanismes nécessaires à la pénétration du champignon sur sa plante hôte.

<sup>1</sup>Sellam A et al., 2007. *Molecular Plant Pathology* 8, 195-208.

*Mots-clés* : mélanine, flavoprotéine, *Alternaria brassicicola*, paroi

# **Posters**

## ***Session 3***

**Mycologie générale  
(taxonomie, écologie et évolution)**

## Implications de différentes espèces de *Botryosphaeriaceae* dans les maladies du bois de la vigne : agressivité et réponse de la plante

A. Bellée<sup>1</sup>, G. Comont<sup>1</sup>, M.-C. Dufour<sup>1</sup>, P. Coutos-Thévenot<sup>2</sup>, M.-F. Corio-Costet<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, ISVV, UMR1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, CS 20032 - 33882 Villenave d'Ornon, France.

<sup>2</sup>Laboratoire de Physiologie et Biochimie Végétales, UMR CNRS 6161, Université de Poitiers, Bâtiment Botanique, 40 Avenue du Recteur Pineau, 86022 Poitiers.

Depuis une quinzaine d'années les maladies du bois de la vigne ont connu un essor considérable et sont maintenant reconnues par tous comme étant un problème majeur pour les viticulteurs sur l'ensemble de la planète. Elles s'attaquent aux parties pérennes de la plante et sont donc particulièrement dommageables pour l'état du vignoble<sup>1</sup>. Leur étude est d'autant plus importante, qu'il n'existe actuellement aucun produit phytosanitaire autorisé capable de lutter efficacement contre elles. Certaines espèces de champignons de la famille des *Botryosphaeriaceae* sont impliquées dans ces maladies et sont capables de coloniser une importante gamme d'hôte<sup>2</sup>. Leur caractère parfois endophyte et leur grande diversité rend parfois difficile d'évaluer leur implication dans les différentes pathologies affectant les bois de vigne<sup>3</sup>. C'est pourquoi, dans un premier temps nous nous sommes intéressés à l'analyse de quelques traits d'histoire de vie de ces espèces, afin de mieux cerner leur importance et leur rôle dans l'expression des symptômes. De plus, afin d'améliorer la lutte, nous avons cherché à mieux connaître et comprendre les défenses que la vigne peut mobiliser pour lutter contre cette famille de champignons. Ainsi, nous avons travaillé avec différentes souches de *Botryosphaeriaceae*, représentatives des espèces majoritairement retrouvées dans le vignoble français. Nous nous sommes tout d'abord intéressés à leur vitesse de croissance *in vitro*, puis à leur comportement *in planta*, en analysant leur capacité à générer des nécroses dans le bois et leur rôle sur l'évolution des stades de développement précoce de la vigne. Ainsi, deux espèces, *Lasidiplodia theobromae* et *Neofusicoccum parvum*, se distinguent des autres par une fitness plus importante tant *in vitro* qu'*in planta*. L'étude des réponses moléculaires de la vigne en présence de ces champignons, via l'analyse de l'expression de 22 gènes impliqués dans les défenses des plantes et le métabolisme primaire, montre que la plante réagit différemment selon l'espèce et la souche considérée. Ainsi, est-il possible de faire apparaître des corrélations entre la fitness des différentes souches et les réponses de la plante, et d'identifier des gènes potentiellement marqueurs de l'état de défense et de l'efficacité de ses défenses.

<sup>1</sup>Larignon P *et al.*, 2009. *Comptes Rendus Biologies*, 332, 765-783.

<sup>2</sup>Urbez-Torres JR *et al.*, 2006. *Plant Disease* 90, 1490-1503.

<sup>3</sup>Smith H *et al.*, 1996. *South African Journal of Botany* 62, 86-88.

*Mots-clés* : *Botryosphaeriaceae*, vigne, maladie du bois, fitness, défense de la vigne, marqueurs

**Bioprospection, characterization and antagonistic effects of wheat endophytes against *Fusarium* head blight**

**M. Comby<sup>1,2</sup>, J. Dupont<sup>1</sup>, C. Profizi<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Muséum National d'Histoire Naturelle - UMR 7205 (CNRS-MNHN) Origine Structure et Evolution de la Biodiversité, CP39 57 rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05, France.

<sup>2</sup>Établissements J. Soufflet, Quai Sarrail, 10402 Nogent sur Seine, France.

Endophytes are microorganisms that colonise plant tissues, apparently without causing any symptoms to their host. Most endophytes are thought to be commensals or weak parasites, but some are known to provide benefits to their hosts, enhancing responses to abiotic stresses and mediating defense against pathogens and herbivores. Consequently endophytes have been demonstrated effective as biological control agents against some plant diseases. The aims of our study are first to investigate the diversity of wheat endophytes and thus to isolate fungi and bacteria from wheat plant tissues, and to test their ability to control *Fusarium* head blight (FHB). FHB is one of the most devastating diseases on wheat crops, caused by several pathogenic fungi such as *Fusarium* spp. and *Microdochium nivale*. Two varieties of wheat with different susceptibilities to FHB have been sampled, at various stages of development and fungi and bacteria have been isolated from several organs of the plants. An important diversity among endophytes has been observed: 79 species of fungi have been identified (belonging to Ascomycota, Basidiomycota and Zygomycota) and 44 species of bacteria (belonging to Actinobacteria, Proteobacteria and Firmicutes). The diversity of wheat endophytes is being studied, to compare the richness and the composition of endophyte communities in plants, according to the host variety, its maturity and the organs sampled. Screening tests are being conducted on 100 strains isolated from wheat to evaluate the ability of endophytes to control *Fusarium* spp.

*Keywords:* *Fusarium* head blight, wheat crop, endophytes, diversity, communities composition, biological control agents.

***Botrytis pseudocinerea* is resistant to the fungicide fenhexamid due to detoxification by the cytochrome P450 monooxygenase Cyp684**S. Azeddine, A. Billard, J. Bach, C. Lanen, A.-S. Walker, D. Debieu, **S. Fillinger**

INRA UR1290 BIOGER CCP, avenue Lucien Brétignières F78850 Thiverval-Grignon, France

The *Botrytis* species complex responsible for the grey mould disease found on grapevines is composed of two species: *Botrytis cinerea*, to a large extent (roughly 90%), and *Botrytis pseudocinerea*. Despite their genetic polymorphism, these species cannot be morphologically distinguished. However, they do differ in their response to several fungicides, especially to the sterol biosynthesis inhibitor fenhexamid. While *B. cinerea* is sensitive to this hydroxyanilide fungicide, *B. pseudocinerea* is naturally resistant. Because a strong synergism was found on *B. pseudocinerea* between fenhexamid and sterol 14 $\alpha$ -demethylation inhibitors (DMIs) known to inhibit Cyp51, a cytochrome P450 monooxygenase, it was hypothesized that the detoxification of fenhexamid by a cytochrome P450 monooxygenase similar to Cyp51 is involved in the resistance *B. pseudocinerea*. To test this, we sought the gene overexpressed in the presence of fenhexamid with the highest similarity to *cyp51*. Taking into account the Cyp P450 classification based on homology and phylogenetic criteria, this gene, whose function remains unknown, belongs to the Cyp684 family. It was then deleted in a *B. pseudocinerea* strain. *cyp684* knock out mutants exhibit a loss of fenhexamid resistance and synergism between DMIs and fenhexamid, showing that the Cyp684 cytochrome P450 protein is responsible for *B. pseudocinerea*'s natural resistance to fenhexamid and is involved in fenhexamid detoxification. Although *cyp684* is also present in *B. cinerea*, which is sensitive to fenhexamid, polymorphism was observed between the two species: in *B. pseudocinerea* the *cyp684* promoter shows a deletion of 25 bp; an insertion of 10 bp is observed in the 3' UTR of the gene. In addition, *cyp684* expression is induced after exposure to fenhexamid in *B. pseudocinerea* suggesting that one of these gene modifications might be responsible for *cyp684* overexpression. We are currently conducting experiments to correlate gene structure and resistance in different *Botrytis* species. The Cyp684 protein will be expressed in a heterologous host to easily identify the produced metabolites.



## Le champignon phytopathogène *Magnaporthe oryzae* est-il associé à des bactéries symbiotiques du genre *Burkholderia* ?

E. Fournier<sup>1</sup>, S. Cros-Arteil<sup>1</sup>, A. Deveau<sup>2</sup>, E. Ortega-Abboud<sup>3</sup>, L. Mallet<sup>4</sup>, H. Chiapello<sup>4,5</sup>, D. Tharreau<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR BGPI, TA A/54 K, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier cedex 5, France

<sup>2</sup>INRA, UMR IAM, IFR110 EFABA, Centre INRA de Nancy, 54280 Champenoux, France

<sup>3</sup>CIRAD, UMR BGPI, TA A/54 K, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier cedex 5, France

<sup>4</sup>INRA, UR MIG, Bât. 233, Domaine de Vilvert, 78352 Jouy-en-Josas, France

<sup>5</sup>INRA, UR MIA-T, 24 chemin de Borde-Rouge, Auzeville CS 52627, 31326 Castanet-Tolosan, France

L'Ascomycète *Magnaporthe oryzae* (*Mo*) cause la pyriculariose du riz et d'autres Poacées. En séquençant 9 génomes de *Mo*, nous avons trouvé dans 4 d'entre eux des régions génomiques bactériennes d'une espèce non encore décrite du genre *Burkholderia* (b-proteobactéries). Très ubiquiste, ce genre comprend des espèces commensales, pathogènes, et symbiotiques d'organismes divers dont des champignons. Des symbioses plus ou moins étroites existent entre *Burkholderia* et des champignons mycorrhiziens ou pathogènes. La bactérie peut jouer un rôle clé dans la biologie du champignon : ainsi le champignon *Rhizopus microsporus* ne produit pas de rhizoxine (indispensable pour attaquer sa plante hôte) sans la bactérie *B. rhizoxinica*. Les séquences bactériennes détectées dans les génomes de *Mo* sont-elles des contaminants, ou s'agit-il d'une réelle association entre *Mo* et *Burkholderia* ? Nous présentons des éléments préliminaires qui favorisent la seconde hypothèse. Pour trois des quatre génomes fongiques contenant la bactérie, la taille cumulée des régions bactériennes est de 4 à 9 Mb, avec environ 5000 gènes. D'après nos premières analyses ces 3 « génomes » bactériens ne sont pas totalement identiques entr eux; il ne s'agirait donc pas d'une souche bactérienne unique. Une technique PCR adaptée aux matrices en très faibles proportions a permis d'amplifier un gène bactérien (*recA*, amorces spécifiques de nos génomes bactériens) dans les ADN de *Mo* séquencés au Génomscope, mais aussi dans des ADN d'autres souches de *Mo* de notre collection. Des colorations (DAPI, Acridine orange) de cultures fraîches des souches de *Mo* censées contenir la bactérie, ont mis en évidence dans certains cas, des corps pouvant correspondre à des bactéries. Des hybridations *in situ* ont été faites avec les sondes eub338 universelle eubactéries, BET42a spécifique b-protéobactéries, et SUBU spécifique *Burkholderia*. Un signal positif a été observé dans plusieurs échantillons hybridés avec les sondes eub338 et BET42a mais pas avec la sonde SUBU. La co-hybridation eub338/BET42a indiquant la présence de bactéries a été observée plusieurs fois (pas systématiquement). Mais les contrôles négatifs (sonde antisens eub338 et échantillons non hybridés) ont révélé des signaux aspécifiques de taille identique dans les longueurs d'onde utilisées. Ces résultats suggèrent que des bactéries sont naturellement associées à *Mo*, mais des analyses complémentaires sont nécessaires pour le confirmer et élucider le type d'association en jeu.

*Mots-clés* : *Magnaporthe*, *Burkholderia*, champignon, bactérie, symbiose

## Diversité de champignons endophytes chez les essences *Paraberlinia bifoliolata*, *Desbordesia glaucescens* et *Scyphocephalium ochocoa* dans les forêts du sud-est du Gabon

I.N. Moussavou Boussougou<sup>1,2</sup>, J. Bérubé<sup>3</sup>, A. Ndoutoume<sup>4</sup>, L. Bernier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CEF, Université Laval, Québec, Canada

<sup>2</sup>ENEF, Cap Estérias, Gabon

<sup>3</sup>CFL, Québec, Canada

<sup>4</sup>IRAF, Gabon

Les champignons endophytes sont présents dans l'arbre et vivent en symbiose. Les arbres des forêts tropicales renferment une grande diversité de champignons endophytes. *Paraberlinia bifoliolata* (Cesalpiniaceae), *Desbordesia glaucescens* (Irvingiaceae) et *Scyphocephalium ochocoa* (Myristicaceae) souffrent de pourritures sur pied et sont abondants dans les forêts gabonaises. Nous souhaitons identifier les champignons endophytes présents chez ces trois essences. Nous avons prélevé des arbres malades des trois essences à l'aide de la sonde de Pressler dans différents sites, extrait l'ADN et amplifié la région ITS 1 —5.8S — ITS2 de l'ADNr. Nous avons identifié 38 espèces de 35 genres différents. Les espèces des genres *Pestalotiopsis* et *Penicillium*, étaient abondants et communs aux trois essences et représentaient respectivement 41 % et 14 % des échantillons. Les espèces identifiées se regroupaient à l'intérieur de 62 OTUs dont 5 seulement étaient partagés. Les indices de Shannon (H) et de Simpson (D) ont révélé que les trois essences présentaient une grande diversité de champignons endophytes. *D. glaucescens* présentait plus de diversité et était comparable à *P. bifoliolata*. Les espèces *Pestalotiopsis mangiferae* et *Penicillium sclerotiorum* étaient plus fréquentes chez les trois essences.

Arnold AE, Lutzoni E, 2007. *Ecology* 88, 541-549.

Hanada RE *et al.*, 2010. *Fungal Biology* 114, 9091-910.

**Mots-clés :** diversité, champignons endophytes, ADNr, *Paraberlinia bifoliolata*, *Desbordesia glaucescens*, *Scyphocephalium ochocoa*

**RPB1 as a marker gene to analyze communities of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota)**

H. Stockinger, M. Peyret-Guzzon, M.-L. Bouffaud, **D. Redecker**

UMR 1347 Agroécologie INRA/Université de Bourgogne/AgroSup, Dijon, France

The influence of agricultural practice on the diversity of Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF, Glomeromycota) continues to be an important research question as these mutualistic symbionts are known to improve plant growth and soil quality. To this day, studies of community diversity in AMF have exclusively been based on nuclear ribosomal gene regions, such as the small and large subunits and the ITS region. In the Glomeromycota, these regions show high intra-organism polymorphism, which can seriously complicate interpretation of diversity data. We chose the *rpb1* gene as an alternative marker as this putative single-copy gene has been shown to be monomorphic within fungal isolates but shows an excellent barcode gap between species. It has also been widely used for phylogenetic studies in other fungal groups. We designed a glomeromycotan-specific PCR primer set for 454 sequencing of a region of this gene, and established a new reference dataset comprising all major AMF lineages. Using this novel molecular tool, we analyzed the influence of tillage regimes on AMF root communities in a field experiment in Switzerland. The PCR primers showed a high specificity for glomeromycotan sequences. We found evidence of significant shifts of the AMF communities caused by soil management and for increased patchiness among non-tilled plots. Tillage effects on different AMF taxa are more complex than previously thought and provide indications about their ability to adapt to agricultural management practices and their life history strategies. The high resolving power of high-throughput sequencing highlights the need for quantitative measurements to efficiently detect these effects.

**LAMP, Loop-mediated isothermal AMPlification, une technique de biologie moléculaire en plein développement**

**J.-P. Thermo**

INRA, UMR AGAP, 20230 San Giuliano

La technique d'amplification isothermale LAMP (Loop-mediated isothermal AMPlification) permet de réaliser une amplification de l'ADN à une température constante de 65 °C. On peut amplifier de l'ADN sans équipements de biologie moléculaire, sans extraction et certains protocoles permettent le diagnostic au champ avec un simple bain-marie. Publiée en 2000 par Notomi, la technique a été jusqu'alors essentiellement appliquée pour la détection ou le typage de pathogènes en médecine, en médecine vétérinaire, en alimentation et en phytopathologie. L'accroissement du rythme des protocoles publiés, la mise sur le marché de kits commerciaux et d'équipements spécifiques laissent entrevoir un développement rapide de cette technique pour de nombreux utilisateurs ainsi qu'une diversification de ses applications.

*Mots-clés* : amplification isothermale, biologie moléculaire, innovation, détection

# **Posters**

## ***Session 4*** **Épidémiologie**

## La sélection variétale au secours du platane décimé par l'épidémie de chancre coloré

D. Andurand, L. Neu, C. Troulet, A. Vigouroux

INRA, UR 407 Pathologie Végétale, 84140 Montfavet, France

Le champignon *Ceratocystis platani* est responsable de l'épidémie de chancre coloré qui décime les platanes en Europe. Ce champignon est originaire des États-Unis<sup>1</sup>. Il aurait été introduit en France au niveau de la ville de Marseille, lors des opérations militaires de la seconde guerre mondiale, via les caisses d'armement américaines en bois de platane contaminé. La maladie du chancre coloré s'est développée ces trois dernières décennies, de manière fulgurante, depuis la région PACA et a déjà provoqué, en France, la mort de 50 000 platanes. *Ceratocystis platani* est un champignon particulièrement virulent qui, à partir de la contamination de l'arbre, est capable de provoquer sa mort en 3/4 ans. Il est classé organisme de quarantaine et de lutte obligatoire en France. L'épidémie se développe désormais en Europe (France, Espagne, Italie, Suisse) et risque, à terme, d'induire la disparition de ce majestueux arbre d'ornement et d'alignement. Les essais de lutte chimique vis-à-vis de l'agent pathogène, menés par l'INRA, sont restés infructueux. Un ensemble de mesures prophylactiques, basées sur la réduction de la dissémination des spores du champignon, sont à appliquer par les professionnels lors de la réalisation de travaux sur et à proximité des platanes. Du fait de l'échec de la lutte chimique, une alternative possible de lutte est la sélection génétique de platanes résistants au chancre coloré. Dès 1990, une première série d'hybridations a été réalisée entre des platanes américains (*Platanus occidentalis*) porteurs d'un certain degré de résistance génétique mais inadaptés aux conditions climatiques européennes et des platanes orientaux (*P. orientalis*) adaptés à nos climats mais sensibles au chancre coloré. A l'issue de cette sélection, un clone unique<sup>2</sup>, a été sélectionné et est commercialisé depuis 2005 sous le nom de Platanor® « Vallis clausa ». Afin de se prémunir d'un contournement éventuel de la résistance de ce clone par l'agent pathogène, il paraissait important d'identifier des sources de résistance supplémentaires. Par ailleurs, le platane est affecté par d'autres bioagresseurs importants, tant par leur impact sur la santé de l'arbre que par les nuisances occasionnées au public (démangeaisons et allergies causées par le tigre du platane). Une deuxième série de croisements entre platanes américains et platanes orientaux a donc été initiée en 2004 en vue d'obtenir d'autres clones combinant une résistance à *C. platani* et à l'oïdium, l'antracnose et au tigre. Les premiers résultats de cette sélection seront présentés.

<sup>1</sup>Jackson LWR, Sleeth B, 1935. *Phytopathology* 25, 22.

<sup>2</sup>Vigouroux A, Olivier R, 2004. *Forest Pathology* 34, 307–319.

*Mots clés* : chancre coloré, lutte génétique, sélection de plantes résistantes

## Modélisation du risque sanitaire en grande culture à l'échelle régionale

D. Blanchard<sup>1,2</sup>, C. Lannou<sup>2</sup>, H. Goyeau<sup>2</sup>, F. Carpentier<sup>3</sup>, H. Monod<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UR 341 MIAJ, F-78352 Jouy-en-Josas

<sup>2</sup>INRA, UR 1290 BIOGER, F-78850 Thiverval Grignon

<sup>3</sup>AgroParisTech, Département SVS, F-75006 Paris

Depuis plusieurs décennies, l'usage intensif d'un petit nombre de variétés très performantes a permis d'augmenter les rendements agricoles. Ces pratiques culturales ont néanmoins eu pour effet de rendre les champs plus sensibles à la maladie. Une solution visant à réduire cette sensibilité tout en limitant l'utilisation de produits phytosanitaires serait de réintroduire de la diversité variétale à l'échelle du paysage. Nous nous intéressons donc à la mise en évidence d'un lien entre composition variétale du paysage et niveau de maladie observé, afin que cette composition variétale devienne un levier d'action possible pour diminuer la maladie. Cela permettra de développer des stratégies ou des recommandations de gestion des variétés résistantes à l'échelle du paysage agricole. Nous étudions le cas concret du pathogène *Puccinia triticina* (rouille brune) infectant les différentes variétés de blés tendres. Nous possédons trois grands jeux de données : un premier présentant les fréquences des différentes variétés de blé tendre à l'échelle du département (FranceAgriMer), un deuxième décrivant la structuration du pathogène en terme de souches<sup>1</sup>, un troisième nous renseignant sur les niveaux de maladie mesurés sur chaque variété (Arvalis). Un premier travail de modélisation a déjà été réalisé sur ce sujet à l'échelle nationale<sup>2</sup>. Un modèle bayésien a permis de rapprocher ces trois grands jeux de données, la composition variétale du paysage servant à décrire à la structure de la population du pathogène, elle-même décrivant le niveau de maladie observé. Le but présent est d'affiner ce travail à l'échelle régionale et d'en évaluer la qualité prédictive. La maladie dépend de deux types de facteurs : des facteurs génétiques (variétés) et des facteurs environnementaux. Nous nous intéressons ici à la capacité de prédire la part de la maladie relative à des facteurs génétiques tels que la variété ou la composition variétale du paysage. Les modèles, soumis à une validation croisée, montrent une capacité à prédire plusieurs années. La composition variétale du paysage n'améliore cependant pas ces prédictions, mais permet de mieux comprendre l'influence qu'ont les variétés les unes sur les autres.

<sup>1</sup>Goyeau H *et al.*, 2006. *Phytopathology* 96, 264-273.

<sup>2</sup>Papaix J *et al.*, 2011. *New Phytologist* 191, 1095-1107.

**Mots-clés** : durabilité de la résistance, épidémiologie du paysage, modélisation bayésienne, régionalisation, rouille brune du blé, valeur prédictive

## Analyse de l'effet des pratiques culturales sur la densité de repousses de pomme de terre. Contribution à la modélisation de la production d'inoculum primaire de *Phytophthora infestans*

T. Rakotonindraina<sup>1</sup>, R. Corbière<sup>2</sup>, C. Chatot<sup>3</sup>, V. Pinchon<sup>4</sup>, L. Dubois<sup>5</sup>, F. Aourousseau<sup>6</sup>, J.-E. Chauvin<sup>2</sup>, J. N. Aubertot<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR 1248 AGIR-ENSAT, F-31326 Castanet Tolosan

<sup>2</sup>INRA, UMR1349 IGEPP, F-35653 Le Rheu et F-29260 Ploudaniel

<sup>3</sup>GERMICOPA R&D, Kerguivarc'h, F-29520 Châteauneuf du Faou

<sup>4</sup>FREDON Picardie, Chambre d'Agriculture, F-80096 Amiens

<sup>5</sup>DGAL-SDQPV, SRAL Nord Pas-de-Calais, Cité administrative, F-59000 Lille

<sup>6</sup>COMITÉ NORD, Station de Recherche, F-76110 Bretteville du Grand Caux

Le mildiou de la pomme de terre, causé par l'agent pathogène *Phytophthora infestans*, est une maladie très préjudiciable de la culture. Jusqu'à présent, la lutte chimique reste le moyen de contrôle le plus utilisé, classant la pomme de terre au premier rang, en termes d'Indices de Fréquence de Traitement en grande culture. Il est donc important de développer des stratégies de contrôle de la maladie limitant le recours aux fongicides en combinant un ensemble d'approches génétique, culturales, physiques et chimiques. Pour remplir cet objectif, le recours à la modélisation est nécessaire. Cependant, il existe un certain nombre de lacunes cognitives quant aux modèles disponibles. En particulier, la production d'inoculum primaire n'est généralement pas représentée. Parmi les sources potentielles d'inoculum primaire, les repousses de pomme de terre (issues de tubercules laissés au champ après la récolte ou présentes dans des tas de déchets) représentent une réelle préoccupation dans les zones de production intensive. Cette étude vise à apporter des connaissances sur la dynamique des repousses dans les parcelles et les tas de déchets. Leur distribution et densité ont été étudiées sur deux années, dans deux régions françaises de production et présentant des environnements contrastés. La densité de repousses a été estimée par échantillonnage selon la méthode des quadrats. En Bretagne (hiver doux), celle-ci a été évaluée dans des parcelles cultivées, l'année précédente, en pommes de terre primeurs ou de plants. L'échantillonnage a été réalisé dans 4 localités (10 parcelles par localité) dans des parcelles d'artichauts, blé, maïs, orge et ray-grass. Des repousses ont été observées dans toutes les parcelles. La plus forte densité a été enregistrée dans les parcelles d'artichauts (6 repousses/m<sup>2</sup>, en moyenne) et la plus faible (2 repousses/m<sup>2</sup>) dans l'orge et le ray-grass. Dans le Nord/ Picardie (hiver rigoureux), la densité de repousses a été estimée sur 34 tas de déchets où elle est très importante (90 tiges/m<sup>2</sup>). Cette étude a fourni des données originales afin de développer un nouveau modèle pour représenter la dynamique des repousses de pomme de terre dans une parcelle ou sur tas de déchets, sous l'influence des pratiques agricoles et du climat. Ce modèle sera utile pour affiner le paramétrage de l'outil d'aide à la décision Miléos® (modèle épidémiologique) et pour contribuer à la conception de stratégies de gestion intégrée, collectives et durables pour cette maladie.

Rakotonindraina T, 2012. *Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse*, INP Toulouse.

*Mots-clés* : *Phytophthora infestans*, *Solanum tuberosum*, protection intégrée, modélisation



**Screening of various bacterial strains from vineyards for their antagonistic potential against two major grapevine trunk fungal pathogens (*Phaeomoniella chlamydospora* & *Neofusicoccum parvum*)**

**R. Haidar**, A. Deschamps, J. Roudet, M. Cassu, M. Fermaud

INRA, UMR1065 Santé et Agroécologie du Vignoble (SAVE), ISVV, CS 20032, 33882 Villenave d'Ornon, France

In France, it has been estimated that Grapevine Trunk Diseases (GTDs) are, mainly, responsible for *ca* 13% of unproductive vineyards. As for Esca, the most frequent GTD disease, no appropriate and efficient treatment is available. Therefore, detection and use of antagonistic microorganisms to achieve biological control would be an important future alternative practice. Our aim was to carry out a screening *in planta* of bacterial strains for antagonism against *Phaeomoniella chlamydospora* and *Neofusicoccum parvum*, two major pathogenic fungi involved in Esca. All tested bacteria strains were isolated from grapevine in Bordeaux vineyards in order to test their antagonism ability in grapevine environmental conditions under which they are potentially best adapted. Among a total of 26 bacterial strains tested, 11 strains were isolated from the surface of grape berries<sup>1</sup> and 15 strains from wood tissues of grapevines expressing or not Esca-foliar symptoms<sup>2</sup>. Under greenhouse conditions, the woody stems of 1500 rooted cuttings were wounded, then co-inoculated with a bacterial suspension and a mycelium plug of one of the pathogens. After a *ca* three-month incubation, disease severity was measured visually considering i) the presence and extent of external cankers and ii) total internal necrotic lesion length in absolute (mm) and relative (%) values. Control cuttings were either inoculated by the fungal pathogen only or not co-inoculated. The evaluation of the antagonistic capacity of the bacterial strains against *P. chlamydospora* and *N. parvum* indicated that different strains exhibited significant differences ( $P = 0.05$ ) compared with the controls. According to internal lesion length, we detected three bacterial strains of interest belonging to the genera: *Pentoea* and *Paenibacillus*. They showed a significant antagonistic ability compared with the controls. Other parameters, such as the healing rate at the wounding site, were related, interestingly, to the previous pathogenicity variables and also used to rank the bacterial strains. Thus, some strains may play different roles in grapevine tissues, according notably to the host tissue from which the strain issued. As further studies, these strains of interest will be better exploited and used to better understand the bacteria-fungi relationships *in planta* with the ultimate goal of an effective biocontrol strategy against Esca disease in vineyards.

<sup>1</sup> Martins G, 2012. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux II.

<sup>2</sup> Bruez, E, 2013. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux II.

*Mots-clés* : *Vitis vinifera*, grapevine trunk disease, esca, co-inoculation, bacteria, biological control

## ModPest: a database of parameters, equations and traits for modelling pest and beneficials in agricultural mosaics

C. Lesur-Dumoulin<sup>1</sup>, J.N. Aubertot<sup>2</sup>, Y. Sohbi<sup>1</sup>, **M. Gosme**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA UMR 211, 78850 Thiverval Grignon, France

<sup>2</sup>INRA UMR 1248, 24 Chemin de Borde-Rouge - Auzeville CS 52627 31326 Castanet-Tolosan Cedex, France

Integrated pest management (IPM) requires that several control methods be combined in order to control simultaneously several pests (weeds, diseases, animal pests), which can interact among themselves. Furthermore, some pests can disperse among fields and semi-natural landscape elements while others may remain in the field during part of the next crop's cycle, adding possible interactions between pests of different crops or different cropping systems. IPM control methods must therefore be designed at pluriannual and landscape scales. Models are powerful tools to deal with such scales but it is often difficult to design IPM strategies based on these models because they commonly account for a single crop and a single pest and for a few not to say no crop management options. With MODPEST, we aimed at gathering knowledge regarding IPM modelling in a easy to reach and easy to use form in order to enhance the development of models simulating several pests' and beneficials' dynamics in agricultural mosaics. ModPest includes two main categories of data. Mathematical equations and parameters derived from existing models are the core of the database. Parameter values may vary according to environmental and agronomical conditions, in particular according to crop management. In order to organize data and enhance data retrieval, ModPest also includes data on biological processes as well as biological and agronomical data on pests summarized as traits<sup>1,2</sup>. Five main processes have been defined: dispersal, development, growth, resource capture, crop loss. Each equation is related to a main process and often described by a specific sub process. Pests are described by six categories of traits: life-history traits, morphological and anatomical traits, physiological and phenological traits, behavioural traits, traits describing pest sensitivity to crop management and traits describing pest damages to crops. ModPest may be used to find and compare equations or to find parameters. Queries can be carried out based on biological process, organisms, traits or crop management. Regarding organisms, exact requests can be supplemented by approximate queries using traits to find similar organisms based on functional proximity. ModPest can be used in conjunction with the modelling framework PODYAM<sup>3</sup> to build models adapted to a specific context and question in order to assess pest control strategies in agricultural mosaics.

<sup>1</sup>De Bello F, Lavorel S, Diaz S *et al.*, 2010. *Biodiversity Conservation* 19, 2873-2893.

<sup>2</sup>Violle C, Navas ML, Vile D *et al.*, 2007. *Oikos* 166, 882-892.

<sup>3</sup>Gosme M, Vinatier F, Hossard L *et al.*, 2014. 10<sup>es</sup> Rencontres de Phytopathologie – Mycologie de la Société Française de Phytopathologie, Aussois.

*Key words:* epidemiological models, spatially explicit models, integrated pest management, functional traits, crop management, agricultural mosaics

## *Coniothyrium minitans* parasite les sclérotés de *Sclerotinia minor*

C. Troulet<sup>1</sup>, I. Bornard<sup>1</sup>, J.-P. Boulon<sup>2</sup>, M. Bardin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UR407 Pathologie Végétale, 84140 Montfavet, France

<sup>2</sup>BELCHIM Crop Protection France S.A., Parc Tertiaire de Bois Dieu – 3 allée des Chevreuils, 69380 Lissieu, France

Les champignons du genre *Sclerotinia* causent des maladies sur de nombreuses cultures d'importance économique. Ces champignons ascomycètes ont la particularité de produire des sclérotés, masses compactes de mycélium aggloméré adaptées à sa survie en conditions défavorables et qui sont souvent la cause des infections primaires chez certaines plantes. Sur laitue par exemple, les attaques, principalement causées par les espèces *S. sclerotiorum* et *S. minor*, occasionnent une pourriture sur les parties de la plante au contact du sol, notamment les feuilles sénescentes, pour finalement envahir d'autres feuilles et le collet, et généralement aboutir à une destruction totale de la plante. Il n'existe actuellement pas de variétés commerciales résistantes et la lutte repose essentiellement sur des techniques culturales et sur l'utilisation de fongicides. Des alternatives prometteuses de lutte, basées notamment sur l'utilisation d'agents de protection biologique, ont été identifiées et la spécialité commerciale Contans WG est homologuée en France depuis 2003 (<http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>). Le champignon *Coniothyrium minitans*, microorganisme actif du Contans WG, parasite les sclérotés de *S. sclerotiorum*<sup>1,2</sup> et présente une bonne efficacité de protection contre cette espèce en condition de plein champ notamment sur laitue<sup>3,4</sup>. Quelques travaux ont révélé une efficacité contrastée de *C. minitans* en conditions de productions commerciales de laitue vis-à-vis de l'espèce *S. minor*<sup>5,6</sup> et à notre connaissance, aucune étude n'a révélé un parasitisme direct de *C. minitans* sur les sclérotés de cette espèce. L'objectif de ce travail est donc de décrire l'interaction *in vitro* entre l'agent de biocontrôle *C. minitans* et l'agent phytopathogène *S. minor*. Des observations en microscopie électronique à balayage suggèrent qu'un hyperparasitisme se met en place rapidement après le traitement des sclérotés par *C. minitans*. Après 3 à 4 semaines, les sclérotés sont fortement dégradés et le champignon antagoniste s'y développe abondamment, produisant de nombreuses pycnides. Les implications possibles de ces résultats seront discutées.

<sup>1</sup>Bennett AJ *et al.*, 2006. *Soil Biology & Biochemistry* 38, 164-172.

<sup>2</sup>Phillips AJL, Price K, 1983. *Phytopathologische Zeitschrift* 107, 193-203.

<sup>3</sup>Budge SP *et al.*, 1995. *Biological Control* 5, 513-522.

<sup>4</sup>Whipps JM *et al.*, 2008. *European Journal of Plant Pathology* 121, 323-330.

<sup>5</sup>Chitrampalam P *et al.*, 2010. *Biological Control* 55, 92-96.

<sup>6</sup>Rabeendran N *et al.*, 2006. *Biological Control* 39, 352-362.

*Mots-clés* : protection biologique, hyperparasitisme

## Effet de l'architecture d'un couvert de blé et des caractéristiques pluviométriques sur la dispersion par éclaboussement de *Mycosphaerella graminicola* en conditions contrôlées

T. Vidal<sup>1,2</sup>, C. Gigot<sup>1,2</sup>, G. Girardin<sup>1,2</sup>, C. Robert<sup>1,2</sup>, C. de Vallavieille-Pope<sup>3</sup>, F. Suffert<sup>3</sup>, L. Huber<sup>1,2</sup>, S. Saint-Jean<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR1091 Environnement et Grandes Cultures, F-78850 Thiverval-Grignon, France

<sup>2</sup>AgroParisTech, UMR Environnement et Grandes Cultures, F-78850 Thiverval-Grignon, France

<sup>3</sup>INRA, UR1290 BIOGER-CPP, F-78850 Thiverval-Grignon, France

La dispersion par éclaboussement de *Mycosphaerella graminicola*, agent de la septoriose du blé, dépend à la fois de l'architecture du couvert végétal<sup>1</sup> et des caractéristiques de la pluie<sup>2</sup>. Une expérimentation en conditions contrôlées a été réalisée dans le but de quantifier l'impact d'architectures de blé différentes et de pluies contrastées sur l'interception de flux de pycnidiospores de *M. graminicola*. Deux lignées de blé tendre quasi-isogéniques (*cv.* Mercia, John Innes Centre UK) différant par un gène de nanisme Rht3<sup>3</sup>, ont été utilisées. Les plantes ont été cultivées en serre, dans des bacs de 1 m<sup>2</sup> jusqu'à épiaison. Des mesures architecturales ont été effectuées afin de caractériser la structure des deux couverts. Les couverts de chaque lignée ont été soumis à des pluies de deux intensités différentes (P<sub>1</sub> : faible intensité, type pluie stratiforme ; P<sub>2</sub> : forte intensité, type pluie d'orage) générées à l'aide d'un simulateur de pluie<sup>4</sup>. Pour chaque pluie artificielle, une source d'inoculum (*i.e.* une solution aqueuse de spores en suspension) a été disposée linéairement au milieu du couvert à hauteur du quatrième étage foliaire en partant de la feuille drapeau. Des pièges à spores, constitués de lames en verre fixées sur un support à différentes hauteurs, ont été positionnés entre les rangs des différents couverts végétaux. Après chaque pluie, les lames utilisées ont été photographiées à l'aide d'un microscope avec platine automatisée, couplé à une caméra numérique. Les spores ont été dénombrées par une technique automatisée d'analyse d'image. Les résultats ont permis de comparer les flux de spores (en fonction de l'étage foliaire et de la distance à l'inoculum) et les symptômes de maladie qui en ont résulté, pour les deux architectures du couvert et les deux pluies. Le flux de spores généré par la pluie P<sub>2</sub> a été supérieur à celui de la pluie P<sub>1</sub>, ce qui a mené à une sévérité plus forte de la septoriose pour la pluie P<sub>2</sub>, quelle que soit l'architecture du couvert. Les plants de blé de petite taille (lignée Rht3) ont été significativement plus affectés par la maladie. L'interception de spores par le rang le plus proche de la source d'inoculum a été plus importante pour les blés de petite taille (Rht3) et a résulté en une surface malade plus forte sur le premier rang, mais aussi en une réduction du flux de spores entre le premier et le deuxième rang pour Rht3.

<sup>1</sup>Robert C, Fournier C, Andrieu B, Ney B, 2008. *Functional Plant Biology* 35, 997–1013.

<sup>2</sup>Huber L, Madden LV, Fitt BDL, 2006. *The Epidemiology of Plant Diseases*. Springer, pp. 348–370.

<sup>3</sup>Flintham JE, Gale MD, 1983. *Theoretical and Applied Genetics* 66, 249–256.

<sup>4</sup>Saint-Jean S, Chelle M, Huber L, 2004. *Agricultural and Forest Meteorology* 121, 183–196.

*Mots-clés* : *Mycosphaerella graminicola*, architecture du blé, dispersion par éclaboussement, caractéristiques pluviométriques

## Effect of pea-wheat mixture on the severity of *Septoria tritici* blotch

E. Pelzer<sup>1</sup>, T. Vidal<sup>2,3</sup>, V. Lebon<sup>2,3</sup>, N. Tarsim-Ntmet<sup>2,3</sup>, C. de Vallavieille-Pope<sup>4</sup>, S. Saint-Jean<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR211 Agronomie, bâtiment EGER, F-78850 Thiverval-Grignon, France

<sup>2</sup>INRA, UMR1091 Environnement et Grandes Cultures, F-78850 Thiverval-Grignon, France

<sup>3</sup>AgroParisTech, UMR1091 Environnement et Grandes Cultures, F-78850 Thiverval-Grignon, France

<sup>4</sup>INRA, UR1290 BIOGER-CPP, F-78850 Thiverval-Grignon, France

To reduce environmental impacts of intensive agriculture, it is necessary to find alternative practices to control wheat diseases, such as the use of species mixture —several crops grown at the same space and for a significant time<sup>1,2</sup>. The aim of this study was to investigate the effect of pea-wheat mixture and its management on the severity of *Septoria Tritici* Blotch STB. Following a 3-year experiment in Grignon, a specific experiment was set up in 2013, to investigate more in detail the effect of nitrogen fertilization and sowing dates, found in previous years to have an impact on the control of STB with species mixtures. Treatments were: wheat (250 pl.m<sup>-2</sup>) sown at 2 dates (S<sub>1</sub>: 15/10/2013, S<sub>2</sub>: 15/11/2013) and fertilized at 2 rates (N<sub>1</sub> pea-wheat balance rate: 60 kg N ha<sup>-1</sup>, N<sub>2</sub> wheat balance rate: 190 kg N ha<sup>-1</sup>, three applications), and pea-wheat mixture (125 pl m<sup>-2</sup> wheat; 40 pl m<sup>-2</sup> pea) sown at 2 dates (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>) and fertilized at 3 rates (N<sub>0</sub>: 0 kg N ha<sup>-1</sup>, N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>). Diseased surfaces and senescence surface were assessed weekly from April 23<sup>th</sup> to July 23<sup>th</sup>. Meteorological data and crop relative humidity, biomass and nitrogen nutrition index (NNI) at flowering, and biomass and yields at harvest, were also assessed. Due to high rain during the epidemic season, the disease pressure was high, leading to high infection for all wheat and pea-wheat treatments. The nitrogen fertilization increased the disease severity for wheat and pea-wheat treatments, whereas the S<sub>2</sub> sowing date led to a slight increase compared to S<sub>1</sub>. Pea-wheat mixture led to a slight decrease in the disease severity compared to wheat. On the one hand, the barrier effect occurs due to the pea (non-host of the STB) but on the other hand, the observed increase of the relative humidity in pea-wheat mixture compared to wheat may favor the infection and sporulation of the disease. Concerning agronomic performances, the NNI was higher in pea-wheat compared to wheat, and the mean wheat yield in mixture (57 q ha<sup>-1</sup>) was higher than half-mean yield of the sole wheat (73 q ha<sup>-1</sup>), confirming the interest of pea-wheat mixtures in terms of nitrogen nutrition and yield. This experiment proves that pea-wheat mixture may reduce STB, particularly when the disease pressure is not too high. Nitrogen fertilization has to be limited in order to reduce the disease risk and to maintain the agronomic performances of pea-wheat mixtures.

Bannon FJ, Cooke BM, 1998. *Plant Pathology* 47, 49–56.

Finckh MR *et al.*, 2000. *Agronomie* 20, 813–837.

*Keywords:* species mixture, splash dispersal, *Mycosphaerella graminicola*, septoria tritici blotch, nitrogen supply

**Posters**

*Session 5*

**Interactions moléculaires**

## Contrôle du mildiou chez la pomme de terre par l'utilisation d'agents de bio-contrôle microbiens

P.-L. Alaux, A. Sipel, H. Dupré de Boulois, S. Declerck

Université catholique de Louvain (UCL), Earth and Life Institute, Mycology, Croix du Sud 2, bte L7.05.06, Louvain-la-Neuve 1348, Belgium

La production biologique de pomme de terre peine à se développer, principalement en raison de la pression phytosanitaire exercée par les maladies. Parmi celles-ci, le mildiou, causé par l'agent pathogène, *Phytophthora infestans* apparaît comme la plus importante. Jusqu'à présent, le seul traitement phytosanitaire autorisé en agriculture biologique contre cette maladie est le cuivre. Cependant, des directives européennes pourraient à l'avenir interdire définitivement ou limiter encore plus fortement son utilisation. Il apparaît donc essentiel de trouver des traitements alternatifs pour viabiliser à long terme la filière de production biologique de pomme de terre. L'utilisation d'agents de bio-contrôle microbiens (ABM) est l'une des options envisagées. Sur base de la littérature, une sélection de 130 champignons filamenteux et levuriens a été réalisée tenant compte de leur potentiel de bio-contrôle. Ces candidats ont ensuite été testés *in vitro* par confrontation directe afin d'évaluer leur capacité à contrôler *P. infestans* (inhibition ou réduction de croissance). Vingt-cinq candidats ont été retenus ainsi que 9 souches de champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA). En effet, de nombreuses recherches ont démontré la capacité de ces champignons symbiotiques à protéger la pomme de terre contre des pathogènes telluriques et aériens, parmi lesquels le *P. infestans*. L'ensemble de ces ABM sont actuellement en cours d'évaluation afin de déterminer leur capacité à contrôler *P. infestans* sur plante entière en condition de serre. Ceci permettra de ne retenir les souches les plus prometteuses, pour ensuite réaliser des combinaisons optimisant les effets de bio-protection. En parallèle, une étude moléculaire de la réponse de défense lors de l'infection par *P. infestans* de plantes mycorhizées sera menée, afin de comprendre plus précisément les régulations impliquées dans la potentialisation des mécanismes de défense dans les parties aériennes. Cette compréhension est indispensable dans l'optique d'intégrer cette technique dans les pratiques culturales en cours de développement ou déjà bien établies.

## Identification d'éléments régulateurs de la potentialisation des défenses UGT76B1-dépendante chez *Arabidopsis thaliana*

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

UMR-Institut Sophia Agrobiotech, INRA1355-CNRS7254-Université Nice-Sophia Antipolis, Sophia Antipolis, France

Les glycosyltransférases végétales (UGTs) catalysent le transfert d'un monosaccharide depuis un donneur activé vers un accepteur, formant une liaison glycosidique. Les molécules ainsi glycosylées sont, par exemple, des métabolites secondaires impliqués dans les réponses aux stress biotiques et abiotiques, ou des phytohormones comme l'acide salicylique (SA). Nos études sur l'interaction entre *Arabidopsis thaliana* et l'oomycète biotrophe obligatoire *Hyaloperonospora arabidopsidis* (*Hpa*) ont permis d'identifier l'UGT76B1 dont le gène est exprimé au cours de l'infection. La mutation du gène conduit à une réduction de la sensibilité des plantes au mildiou, tandis que sa surexpression stimule le développement de la maladie. Par rapport aux plantes sauvages, l'infection par *Hpa* conduit à une accumulation plus importante de SA chez le mutant *ugt76B1* et à une stimulation plus rapide et plus intense des défenses SA-dépendantes. Les plantes mutantes se trouvent dans un état de potentialisation des défenses. *Hpa* semble ainsi activer l'UGT76B1 pour éviter la mise en place de cet état d'alerte. Pour identifier des régulateurs de la potentialisation UGT76B1-dépendante, nous avons effectué une comparaison du transcriptome global entre plantes sauvages et mutantes. Elle a permis d'identifier notamment un gène dont l'expression n'est pas détectable chez les plantes sauvages, mais fortement activé chez le mutant. L'analyse fonctionnelle de l'UGT76B1 et du gène codant ce régulateur candidat de la potentialisation des défenses sera présentée.

*Mots-clés* : oomycète biotrophe, potentialisation, acide salicylique, défense, sensibilité



**Identification de gènes et de mécanismes moléculaires de la légumineuse modèle *Medicago truncatula* impliqués dans la résistance partielle à *Aphanomyces euteiches***

Y. Badis<sup>1</sup>, M. Bonhomme<sup>1</sup>, O. André<sup>1</sup>, J.-M. Prosperi<sup>2</sup>, M.-L. Pilet-Nayel<sup>3</sup>, N. Young<sup>4</sup>, B. Dumas<sup>1</sup>, C. Jacquet<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR5546 CNRS-UPS, Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, BP42617, Auzeville, F-31326, Castanet-Tolosan, France

<sup>2</sup>INRA - Institut National de la Recherche Agronomique, UMR AGAP, Montpellier, 34060, France

<sup>3</sup>INRA, Agrocampus Ouest, Université de Rennes1, UMR118, Amélioration des Plantes et Biotechnologies Végétales, 35653 Le Rheu Cedex, Rennes, France

<sup>4</sup>Department of Plant Biology, University of Minnesota, Saint Paul, MN 55108

*Aphanomyces euteiches* (*Ae*) est un oomycete phytopathogène responsable de la pourriture racinaire du pois. En l'absence de méthode de lutte efficace, l'amélioration génétique de la résistance est la voie de recherche la plus prometteuse. Pour accélérer les études génétiques, un pathosystème entre ce parasite et la légumineuse modèle *Medicago truncatula* a été développé. L'exploitation de la variabilité naturelle présente dans une collection de 192 accessions montre l'existence de mécanismes de résistance partielle à *Ae* qui se caractérise par une réduction de la sévérité des symptômes, plutôt qu'une absence totale de maladie. Une analyse par génétique d'association (GWAS) exploitant le phénotypage de 179 accessions, utilisant des procédures *in vitro* et en serre et l'utilisation de plus de 5 millions de SNPs, a permis l'identification de deux locus majeurs responsables respectivement de 23 % et 18 % de la variance phénotypique observée<sup>1</sup>. Ces deux locus indépendants codent respectivement une protéine à domaine F-box et un facteur de transcription de type MYB et colocalisent précisément avec le QTL *prAe1*<sup>2</sup> précédemment détecté après criblage d'une population de lignées recombinantes. Pour aller plus loin dans la compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents à *prAe1* les transcriptomes de 5A et 5F, deux lignées quasi-isogéniques portant respectivement les allèles A17 (résistant) et F83 (sensibles) de *prAe1*, ont été comparés. Cette étude indique que les deux lignées sont capables de détecter *Ae* pour monter une réponse de défense précoce, mais que la lignée partiellement résistante 5A possède un niveau basal d'expression supérieur pour de nombreux gènes associés à la signalisation, au stress biotique et au métabolisme des flavonoïdes. Des approches biochimiques et microscopiques confirment la plus grande abondance des flavonoïdes totaux dans les tissus racinaires de 5A avant, et après infection.

<sup>1</sup>Bonhomme M *et al.*, 2013. *New Phytologist*, sous presse.

<sup>2</sup>Djéballi *et al.*, 2009. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22.

*Mots-clés* : génétique d'association, QTL, résistance partielle, *Medicago*, oomycète

## Expression profiles of *Mycosphaerella graminicola* candidate effector genes

J. Confais, H. Fartoun, L. Gout, S. Deller, M.-H. Lebrun, T.C. Marcel

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

*Mycosphaerella graminicola* causes one of the most damaging diseases of wheat. *M. graminicola* has a large arsenal of secreted proteins expressed during infection that includes Candidate Effectors (CE,  $n \geq 171$ )<sup>1</sup>. However, it remains unclear how CEs facilitate the initial symptomless phase, support fungal invasion and trigger the formation of necrotic sporulating lesions. Using the annotated IPO323 reference genome<sup>2</sup>, we selected 27 genes encoding small secreted proteins (*i.e.*, MgSSPs) likely specifically expressed during infection according to EST data. We explored the temporal expression of these genes by quantitative RT-PCR during compatible and incompatible interactions. We have confirmed that most of the selected MgSSPs (75%) are over-expressed (10 to 8000 fold) during plant infection compared to mycelium grown *in vitro*. Among these MgSSPs, we observed groups of CEs specifically expressed to each step of the infectious process. The peak of expression of most of these MgSSPs (75%) was observed during the late symptomless phase (7-10 days post-inoculation, dpi), with a dramatic decrease at early stages of lesion formation ( $\geq 14$  dpi). This expression pattern was also observed for the known chitin-binding effector ECP6 required for infection<sup>3</sup>. Such effectors might be involved in endophytic growth or plant defense suppression during the symptomless phase. Few other MgSSPs (15%) have their peak of expression during the early necrotic symptom phase associated with exponential fungal growth ( $\geq 12-14$  dpi,  $n = 1$ ) or later during the necrotic phase (15-21 dpi,  $n = 2$ ). These effectors might play a role in triggering either necrotic symptoms, massive colonization of host tissues or pycnidia formation. The functional analysis of some of these genes is underway to validate their role during infection.

<sup>1</sup>do Amaral *et al.*, 2012, *PLoS ONE* 7(12):e49904.

<sup>2</sup>Goodwin *et al.*, 2012. *PLoS Genetics* 7(6): e1002070.

<sup>3</sup>Marshall *et al.*, 2011. *Plant Physiology* 156, 756.

*Mots-clés* : *Mycosphaerella graminicola*, candidate effector

## « BioMolChem », un outil pour évaluer le statut de défense de cultivar ou de génotypes résistants : du gène au champ

M.-F. Corio-Costet<sup>1</sup>, D. Merdinoglu<sup>2</sup>, M.C. Dufour<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR Santé et Agroécologie du vignoble (SAVE-1065), ISVV, CS 20032, 71 rue Bourloux, 33882 Villenave d'Ornon, France

<sup>2</sup>INRA, UMR1131 Santé de la Vigne et Qualité du Vin INRA, BP 20507, 68021 Colmar, France

Utiliser la stimulation des défenses des plantes peut s'avérer intéressant en tant que méthode complémentaire pour limiter les intrants pesticides et/ou pour limiter les contournements de résistance. Pour évaluer l'état de défense de la vigne, nous avons développé un outil « BioMolChem » qui via une triple approche biologique, moléculaire et biochimique permet d'évaluer l'état de défense de différents cultivars ou de génotypes résistants ayant introgressé des QTL de résistance<sup>1</sup>. Ainsi avons nous pu montrer qu'il existe des corrélations entre l'expression de certains gènes et une efficacité de protection vis-à-vis de l'oïdium et du mildiou de la vigne. De plus, la production de certaines phytoalexines est également corrélée au niveau de protection et ce tant, pour des cultivars dont les défenses ont été stimulées par différents stimulateurs de défenses, que pour des génotypes résistants possédant des QTL de résistance vis-à-vis de l'oïdium et du mildiou. Nous montrons aussi que le resvératrol et certaines PR protéines sont des marqueurs de défenses, mais pas de l'efficacité des défenses et inversement, d'autres molécules et gènes seraient des marqueurs d'efficacité des défenses. Aujourd'hui cet outil est utilisé au vignoble et une nouvelle puce Neovigen de 96 gènes a été mise au point. Nous disposons aujourd'hui d'outils utilisables sur le terrain qui permettent de comprendre et de visualiser l'effet des défenses de la plante.

<sup>1</sup>Dufour MC *et al.*, 2013. *Plant Pathology* 62,270-382.

*Mots clés* : vigne, état de défense, marqueurs d'état, gènes, phytoalexines, vignoble

## Étude du rôle des gènes *Mlo* dans la résistance aux oïdiums du melon

S. Elbelt<sup>1</sup>, N. Giovinazzo<sup>1</sup>, V. Sarnette<sup>1</sup>, C. Troadec<sup>2</sup>, A. Bendahmane<sup>2</sup>, C. Dogimont<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UR1052 Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes, Domaine St Maurice - Allée des Chênes CS 60094, 84143 Montfavet Cedex, France

<sup>2</sup>INRA, UMR1165 Unité de Recherche en Génomique Végétale, 2, rue Gaston Crémieux, CP5708, 91057 Évry Cedex, France

Les oïdiums sont des champignons Ascomycètes, biotrophes obligatoires. De ce fait, les oïdiums sont dépendants des gènes de la plante hôte pour leur développement. Des gènes impliqués dans la sensibilité de la plante hôte aux champignons ont été identifiés chez plusieurs espèces végétales ; ils constituent de nouvelles cibles pour la lutte génétique. En particulier, certains membres de la famille « *Mildew resistance locus o* » *Mlo* sont utilisés par les oïdiums pour leur infestation des plantes suivant un mécanisme conservé entre monocotylédones et dicotylédones. Les gènes *Mlo* codent pour des protéines possédant 7 domaines transmembranaires, localisées au sein de la membrane plasmique ; leur fonction chez la plante est encore méconnue. Chez l'orge, la mutation d'un gène *Mlo* confère une résistance totale, à large spectre et durable malgré une utilisation aux champs depuis de nombreuses années<sup>1</sup>. Les travaux réalisés sur l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana* ainsi que chez plusieurs plantes cultivées, la tomate, le piment, le pois, ont montré que les gènes *Mlo* ont un rôle généraliste dans l'infection des plantes par différentes espèces d'oïdium<sup>2,3,4,5</sup>. Chez *A. thaliana*, les gènes *Mlo* constituent une famille multigénique de 15 gènes qui se répartissent en 4 clades ; la mutation de 3 gènes du même clade confère une résistance totale aux oïdiums<sup>2</sup>. Notre objectif est d'établir le rôle fonctionnel des gènes de la famille *Mlo* dans l'interaction du melon avec les oïdiums, en vue de créer de nouvelles résistances aux oïdiums, ravageurs majeurs des Cucurbitacées. Nous avons identifié 15 gènes *Mlo* dans 3 espèces de Cucurbitaceae, le melon (*Cucumis melo*), le concombre (*Cucumis sativus*) et la pastèque (*Citrullus lanatus*). Une analyse phylogénétique nous a permis d'identifier 5 gènes candidats, potentiellement impliqués dans l'interaction avec l'oïdium. Afin de valider la fonction de ces gènes, des mutants ont été identifiés par TILLING. L'étude du phénotype de résistance à l'oïdium de plantes mutantes dans le gène *CmMLO2* nous permet d'affirmer que, chez le melon, les gènes *Mlo* sont impliqués dans l'infection par deux espèces d'oïdium, *Podosphaera xanthii* et *Golovinomyces cichoracearum*.

<sup>1</sup>Büsches R *et al.*, 1997. *Cell* 88, 695-705.

<sup>2</sup>Consonni C *et al.*, 2006. *Nature Genetics* 38, 16-720.

<sup>3</sup>Bai Y *et al.*, 2008. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21, 30-39.

<sup>4</sup>Zheng Z *et al.*, 2013. *PLoS ONE* 8(7):e70723.

<sup>5</sup>Humphry M *et al.*, 2011. *Molecular Plant Pathology* 12, 866-878.

Mots-clés : *MLO*, oïdium, *Cucumis melo*, résistance durable

## Expression phénotypique de facteurs de résistance quantitative à la tavelure chez le pommier et impacts de ces facteurs sur le cycle infectieux de *Venturia inaequalis*

G. Laloi<sup>1,2,3</sup>, T. Kerdraon<sup>1,2,3</sup>, C.-E. Durel<sup>1,2,3</sup>, B. Le Cam<sup>1,2,3</sup>, E. Vergne<sup>1,2,3</sup>, V. Caffier<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences – IRHS, 49071 Beaucouzé Cedex, France

<sup>2</sup>AgroCampus-Ouest, UMR1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences – IRHS, 49045 Angers, France

<sup>3</sup>Université d'Angers, UMR1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences – IRHS, SFR 4207 QUASAV, PRES L'UNAM, 49045 Angers, France

La tavelure est la principale maladie du pommier dans le monde. Le contrôle de la tavelure requiert de nombreux traitements chimiques (15-20 par an) entraînant des risques au niveau de la santé humaine et de l'environnement. La culture de cultivars génétiquement résistants constitue une alternative à l'utilisation des pesticides. La résistance quantitative (QTL) est généralement considérée comme plus durable que la résistance qualitative (gène majeur) car cette dernière est plus facilement contournée par l'agent pathogène. Une plus faible pression de sélection vis-à-vis de l'agent pathogène, des facteurs de résistances polygéniques et/ou la combinaison de différents mécanismes de défense sont les arguments fréquemment donnés pour expliquer la plus forte durabilité des résistances quantitatives. Les modes d'actions des facteurs de résistance et les modalités de leur contournement sont peu connus et cependant primordiaux pour aboutir à la création de variétés présentant une résistance durable. La combinaison de différents facteurs de résistance contrôlant différentes voies métaboliques pourrait être une stratégie plus durable au regard du potentiel d'évolution de l'agent pathogène. Dans le pathosystème « tavelure x pommier », nous proposons d'évaluer l'intérêt de la combinaison de trois QTLs de résistance à la tavelure (T1, F11 et F17) en termes d'efficacité et de durabilité. Pour cela, quatre classes génotypiques de pommier ont été inoculées en conditions contrôlées avec une souche de *Venturia inaequalis* : S (génotypes sensibles), T1 (génotypes portant le QTL T1), F11+F17 (génotypes avec les QTLs F11 et F17) et T1+F11+F17 (génotypes présentant les trois QTLs). A partir de ce matériel biologique, il s'agira de déterminer : *i*) quelles sont les voies métaboliques mises en place chez les différentes catégories génotypiques (par microarrays sur une cinétique temporelle ; 0, 8, 24, 72h après inoculation) ? *ii*) quelle est l'expression phénotypique de ces quatre catégories (par notations macroscopiques qualitative et quantitatives) ? *iii*) quel est l'impact de ces QTLs sur le cycle infectieux du champignon (par des observations microscopiques) ? Ce matériel végétal est également planté au verger afin de suivre l'évolution de la maladie en conditions naturelles d'infection sur plusieurs années. Nous pourrions ainsi définir s'il est possible de relier les modes d'action (modulation des voies métaboliques de la plante et impact sur le cycle infectieux de l'agent pathogène) des QTLs, seuls et en combinaison, et leur efficacité/durabilité au verger.

*Mots-clés* : résistance quantitative, transcriptomique, microscopie, voies métaboliques, durabilité

## Lien entre résistance partielle à *Alternaria dauci* et résistance aux toxines fongiques chez la carotte

M. Lecomte<sup>1,2,3</sup>, L. Hamama<sup>1,2,3</sup>, L. Voisine<sup>1,3</sup>, J. Gatto<sup>4</sup>, J.-J. Hellesbeux<sup>4</sup>, D. Séraphin<sup>4</sup>, P. Richomme<sup>4</sup>, C. Boedo<sup>5</sup>, C. Yovanopoulos, M. Gyomlai, M. Briard<sup>1,3</sup>, P. Simoneau<sup>2,3</sup>, P. Poupard<sup>2,3</sup>, R. Berruyer<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Agrocampus Ouest, UMR 1345 IRHS, SFR 4207 QUASAV, F-49045 Angers, France

<sup>2</sup>Université d'Angers, UMR 1345 IRHS, PRES L'UNAM, F-49045 Angers, France

<sup>3</sup>INRA, UMR 1345 IRHS, F-49071 Beaucoeur, France

<sup>4</sup>Université d'Angers, Substances d'Origine Naturelle et Analogues Structuraux, SFR 4207 QUASAV, F-49100 Angers, France

<sup>5</sup>INRA, UMR 1095 GEDEC, F-63039 Clermont-Ferrand, France

Avec une production de 33 millions de tonnes sur plus d'un million d'hectares, la carotte est le légume racine le plus consommé dans le monde. La brûlure du feuillage, due à *Alternaria dauci*, est la maladie foliaire la plus préjudiciable pour la production. Les traitements fongicides utilisés sont coûteux, potentiellement nocifs pour l'environnement, et ne sont pas toujours efficaces. Des variétés à résistance partielle, comme Boléro ou Texto, sont commercialisées mais leur niveau de résistance reste insuffisant. Malgré un certain nombre de découvertes récentes, les mécanismes de la résistance partielle sont mal connus. Nous nous sommes donc attachés à élucider ces mécanismes dans le cas de l'interaction carotte / *A. dauci*. La démarche mise en œuvre est celle d'une approche avec *a priori*, où l'importance de différents mécanismes dans la résistance partielle est évaluée. Lors de travaux précédemment présentés à Aussois<sup>1</sup>, nous avons étudié le rôle de molécules de défense. Les travaux présentés ici s'intéressent au rôle joué par la résistance aux toxines fongiques dans l'interaction. En effet, *A. dauci* produit des phytotoxines, dont le zinniol ferait partie. Pour évaluer cette résistance, nous avons soumis des suspensions de cellules embryogènes de carotte à des exsudats fongiques. Nos résultats montrent une corrélation entre le niveau de résistance des cellules traitées (embryogenèse somatique après trois semaines d'exposition) et la résistance des génotypes évaluée au niveau de la plante entière. Ainsi, la résistance partielle de la carotte face à *A. dauci* semble inclure une résistance aux exsudats fongiques. Le niveau d'activité métabolique des cellules a été mesuré après 48h d'exposition aux exsudats fongiques. Le métabolisme chez les cellules sensibles n'est pas fortement inhibé, ce qui indiquerait que l'action des toxines ne se manifeste qu'à long terme. En revanche, une forte activation du métabolisme est observée chez certaines variétés résistantes. Des expérimentations ont aussi été réalisées dans le but de mieux connaître la nature chimique de cette toxicité. Elles ont permis de mettre en évidence que (i) la toxicité observée est due à un ou des composés apolaires et que (ii) cette toxicité n'est pas due au zinniol. Afin de mieux connaître la nature chimique de cette toxicité, des travaux de fractionnement vont être menés à bien. Parallèlement, le transcriptome d'*A. dauci*, sera utilisé pour rechercher les gènes impliqués dans la synthèse de toxines propres à ce champignon.

<sup>1</sup>Lecomte\* M., Berruyer\* R et al., 2012. *Plant Molecular and Physiological Pathology* 80, 58-67.

**Efficacité et mode d'action du fongicide LBG-01F14, un phosphonate stimulant les défenses de la vigne contre le mildiou (*Plasmopara viticola*)**

W. Rémus-Borel<sup>1</sup>, M.-C. Dufour<sup>1</sup>, A. Lebreton<sup>1</sup>, V. Arnal<sup>2</sup>, F. Rollin<sup>2</sup>, M.-F. Corio-Costet<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR Santé et Agroécologie du Vignoble, 71 avenue Edouard Bourlaux, CS 20032, 33882 Villenave d'Ornon Cedex

<sup>2</sup>De Sangosse, ZI Bonnel BP5, 47480 Pont-de-Casse

*Plasmopara viticola*, le champignon pathogène responsable du mildiou de la vigne, entraîne des pertes de rendements importantes ainsi que des altérations dans la qualité des moûts de raisin. Le LBG-01F14, une formulation à base de deux sels de phosphonate de potassium (790g/L), a été développée pour lutter contre cet oomycète. Ce produit systémique qui présente des qualités préventives et curatives, possède une double action de fongicide et de renforcement des défenses naturelles de la plante. Des études d'efficacité ont permis de caractériser les CI<sub>50</sub> et CMI du LBG-01F14 contre le mildiou et de définir pour l'ensemble de l'étude une concentration permettant 60 % d'inhibition de la maladie. Le fongicide agirait au cours des étapes précoces du développement de la maladie en limitant la libération des zoospores, permettant ainsi jusqu'à 94 % d'inhibition de la germination. L'efficacité du LBG-01F14 contre le mildiou de la vigne a été comparée à celle d'autres phosphonates (Fosetyl-Al et PK2). Pour étudier l'activité de stimulation des défenses de la vigne, l'expression de gènes impliqués dans les défenses<sup>1</sup> a été quantifiée sur feuilles de vigne. Vingt quatre heures après un traitement au LBG-01F14, des gènes impliqués dans la biosynthèse des stilbènes et des flavonoïdes ou codant pour des protéines PR (PR3, 6, 11), sont surexprimés alors que la seule infection par le mildiou tend à réprimer ces mêmes gènes. Quarante huit heures après l'inoculation, la surexpression observée précocement dans la modalité traitée au LBG-01F14 s'estompe alors qu'elle apparait mais de manière moins intense dans la modalité non-traitée et se traduit par une importante expression de la maladie. La surexpression précoce de gènes résultant du traitement au LBG-01F14 semblerait donc liée à l'efficacité observée sur le mildiou de la vigne. Cette étude a permis d'évaluer et de caractériser les effets du LBG-01F14 et apporte des précisions sur le mode d'action de ce phosphonate dans la lutte contre le mildiou de la vigne.

<sup>1</sup>Dufour MC *et al.*, 2013. *Plant Pathology*, 62, 270-382.

**Identification de marqueurs de défense potentiellement impliqués dans la résistance partielle de la pomme de terre à deux agents pathogènes : *Phytophthora infestans* et *Pectobacterium atrosepticum***

G. Saubeau, G. Hamelin, V. Lecomte, F. Val, D. Andrivon

UMR1349 IGEPP INRA, Agrocampus Ouest, Université de Rennes 1

Chez la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), des niveaux très variables de résistance quantitative existent vis-à-vis de *Phytophthora infestans* (*Pi*, agent du mildiou) et *Pectobacterium atrosepticum* (*Pa*, agent de pourritures molles). Ils pourraient s'expliquer par l'induction plus ou moins forte et/ou plus ou moins rapide de voies générales de défense. Des travaux antérieurs ont montré que des éliciteurs issus des deux pathogènes (filtrat de culture de *Pi* (CCF) et lipopolysaccharides de *Pa*) se comportaient comme des PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns) en induisant, dans des cultures cellulaires de tabac, tomate et pomme de terre, des réactions de défense précoces et plus tardives<sup>1,2,3</sup>. Kröner *et al.*<sup>4,5</sup> ont mis en évidence des corrélations entre l'activation par les PAMPs de la phénylalanine ammonia lyase (PAL) et les niveaux de résistances de 5 génotypes de pommes de terre. Ces différentes études confortent l'hypothèse de l'existence d'un lien entre niveau de résistance et induction des défenses. Notre objectif a été de valider cette hypothèse en la testant sur un plus grand nombre de marqueurs. Une puce de 53 gènes décrits comme impliqués dans la défense chez la pomme de terre a été élaborée. Notre étude s'est focalisée sur la comparaison de l'induction de ces marqueurs après élicitation par le CCF des feuilles de 4 génotypes différant par leur niveau de résistance à *Pi*. Les niveaux de résistance ont été évalués par la mesure de la quantité de symptômes et l'induction a été étudiée au niveau (i) transcriptionnel par RT-qPCR et (ii) traductionnel par des analyses chromatographiques, des dosages biochimiques ou par immunomarquages. Les premiers résultats montrent une induction différentielle, par rapport au contrôle, des gènes impliqués dans la voie des phénylpropanoïdes. Chez Ackersgen variété la plus résistante à *Pi*, l'induction des transcrits est cohérente avec les différentes étapes de synthèse, de signalisation de l'acide salicylique et des réponses qui en découlent. Chez cette variété, une augmentation de la quantité d'acide salicylique 24h après élicitation a également été mise en évidence par UPLC-TQD. Ces analyses préliminaires suggèrent que le CCF induit différentiellement les transcrits ce qui se traduit aussi par l'induction des métabolites. Les résultats obtenus pour les autres marqueurs sont en cours d'analyses. Les corrélations entre résistance quantitative et expression des défenses seront discutées par la suite.

<sup>1</sup>Desender S *et al.*, 2006. *Plant Biology* 8, 636-645.

<sup>2</sup>Val F. *et al.*, 2008. *Phytopathology* 98, 653.

<sup>3</sup>Saubeau G *et al.*, 2013. *Plant Cell Reports* 32, 579-589.

<sup>4</sup>Kröner A *et al.*, 2011. *PLoS ONE* 6(8): e23331.

<sup>5</sup>Kröner A *et al.*, 2012. *Plant Physiology and Biochemistry* 57, 23-31.



## Intérêt des approches protéomique et métabolomique pour la caractérisation de la résistance induite chez la tomate

A. Séassau<sup>1,\*</sup>, V. Pleskova<sup>1,2</sup>, Z. Storkova<sup>1,2</sup>, B. Industri<sup>1</sup>, M. Ponchet<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR Institut Sophia Agrobiotech, 400 Route des Chappes, BP167, 06903 Sophia Antipolis Cedex

<sup>2</sup>Masaryk University, Kotlarska 2, 611 37 Brno, Czech Republic

\* Plate Forme SPIBOC, plateau de biochimie analytique, ISA

L'utilisation de la résistance induite chez les plantes est une alternative crédible aux traitements phytosanitaires conventionnels même si cette stratégie souffre de sa comparaison systématique avec l'efficacité d'un pesticide et d'un manque de reproductibilité inhérent aux processus biologiques qu'elle mobilise. La littérature est très abondante sur les mécanismes de défense des plantes. Cependant ces connaissances sont souvent utilisées de manière générique alors que l'essentiel des résultats a été obtenu sur plantes modèles peu représentatives de la biodiversité des plantes supérieures. Un effort est donc requis pour distinguer ce qui est générique de ce qui est « espèce spécifique » concernant les plantes cultivées. Nous avons étudié en collaboration avec l'unité de pathologie végétale (INRA Avignon), la résistance induite chez la tomate vis-à-vis de 3 agents pathogènes (*Phytophthora parasitica*, *Botrytis cinerea* et *Oidium neolycopersici*). Nous avons pu montrer que le BABA (acide  $\beta$ -aminobutyrique) est un bon inducteur de résistance conformément à la littérature<sup>1,2</sup> tandis que le SA (acide salicylique) est inefficace. Afin de comprendre les mécanismes impliqués dans la résistance induite par le BABA, des études du « full » transcriptome, du protéome soluble et du métabolome secondaire ont été menées en parallèle. Pour ces deux dernières, nous avons mis au point une technique d'extraction permettant d'obtenir séquentiellement les différents constituants à partir du même échantillon. L'identification protéique par LC-MS/MS des protéines solubles a permis d'identifier 200 protéines dont 50 sont différentiellement accumulées après traitement BABA, essentiellement des protéines de défense et des protéases. L'analyse des métabolites secondaires, a permis de mettre en évidence l'accumulation de conjugués de type hydroxycinnamoylamines comme la feruloylputrescine et la feruloylagmatine qui est connue pour son activité antifongique<sup>3</sup>. La biosynthèse de ces molécules requière deux voies métaboliques distinctes (phénylpropanoïdes et polyamines) ce qui implique la mobilisation coordonnée de dizaines d'activités enzymatiques (gènes). Les résultats obtenus concordent globalement avec ceux de l'étude transcriptomique. Cependant nous montrons ici (i) comment ces approches peuvent compléter et enrichir la vision transcriptomique (ii) que, chez la tomate, le SA ne semble pas jouer un rôle clé contrairement à ce que décrit la littérature sur les plantes modèles.

<sup>1</sup>Cohen Y, 1993. *Phytopathology* 84, 55-59.

<sup>2</sup>Oka Y, Cohen Y, Spiegel Y, 1999. *Phytopathology* 89, 1138-1143.

<sup>3</sup>Jin S, Yoshida M, 2000. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 64, 1614-1617.

*Mots-clés* : *Solanum lycopersicum*, résistance induite, spectrométrie de masse, métabolites, protéines

# **Journées Jean Chevaugéon 2014**

## **LISTE DES PARTICIPANTS**

## PARTICIPANTS JJC 2014

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
<b>Agusti-Brisach</b>	<b>Carlos</b>	Université d'Angers, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, UFR Sciences, 2 boulevard Lavoisier, 49045 Angers, France	caragbri@gmail.com
<b>Alaux</b>	<b>Pierre-Louis</b>	Université catholique de Louvain (UCL), Earth and Life Institute, Mycology, Croix du Sud 2, bte L7.05.06, Louvain-la-Neuve 1348, Belgique	pierre-louis.alaux@uclouvain.be
<b>Allasia</b>	<b>Valérie</b>	INRA, UMR 1355 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	valerie.allasia@sophia.inra.fr
<b>Andurand</b>	<b>Dominique</b>	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	dominique.andurand@avignon.inra.fr
<b>Atuahiva</b>	<b>Timeri</b>	Établissement Vanille de Tahiti, Raiatea 98735 Uturoa-Raiatea, Polynésie Française	tim_atuahiva@yahoo.fr
<b>Badis</b>	<b>Yacine</b>	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	badis@lrsv.ups-tlse.fr
<b>Badouin</b>	<b>Hélène</b>	CNRS, UMR 8079 ESE, CNRS-Université Paris Sud, Orsay Cedex, France	helene.badouin@u-psud.fr
<b>Bellée</b>	<b>Anthony</b>	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	anthony.bellee@bordeaux.inra.fr
<b>Bena</b>	<b>Gilles</b>	IRD, UMR LSTM, IRD-INRA-CIRAD-Montpellier SupAgro-Université Montpellier 2, TA A-82/J, F-34398, Montpellier Cedex 5, France	gilles.bena@ird.fr
<b>Berruyer</b>	<b>Romain</b>	Université d'Angers, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, UFR Sciences, 2 boulevard Lavoisier, 49045 Angers, France	romain.berruyer@univ-angers.fr
<b>Blaise</b>	<b>Françoise</b>	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	francoise.blaise@versailles.inra.fr
<b>Blanchard</b>	<b>David</b>	INRA, UR 341 MIAJ, Domaine de Vilvert, 78352 Jouy-en-Josas, France	dblanchard@jouy.inra.fr
<b>Bonneville</b>	<b>Jean-Marc</b>	CNRS, UMR 5553 LECA, UJF-CNRS, BP 53, 2233 rue de la Piscine, 38041 Grenoble, France	jean-marc.bonneville@ujf-grenoble.fr
<b>Bousset</b>	<b>Lydia</b>	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA-Agrocampus Ouest-Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	lydia.bousset@rennes.inra.fr
<b>Brun</b>	<b>Sylvain</b>	Université Paris-Diderot, LIED, 5 rue Thomas Mann, 75013 Paris, France	sylvain.brun@igmors.u-psud.fr
<b>Buée</b>	<b>Marc</b>	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	marc.buee@nancy.inra.fr
<b>Calmes</b>	<b>Benoît</b>	Université d'Angers, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, UFR Sciences, 2 boulevard Lavoisier, 49045 Angers, France	calmes.b@gmail.com

## PARTICIPANTS JJC 2014

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
Calonnec	Agnès	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	calonnec@bordeaux.inra.fr
Chan Ho Tong	Laetitia	CNRS, UMR 8621 IGM, CNRS-Université Paris Sud, Orsay Cedex, France	chan.laetitia@gmail.com
Cilas	Christian	CIRAD, UR 106 Bioagresseurs, TAA-106 / D - Campus international de Baillarguet, F-34398 Montpellier, France	christian.cilas@cirad.fr
Comby	Morgane	Muséum National d'Histoire Naturelle, 57 rue Cuvier, 75231 Paris, France	mcomby@mnhn.fr
Comont	Gwénaëlle	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	gwenaelle.comont@bordeaux.inra.fr
Confais	Johann	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	johann.confais@versailles.inra.fr
Corbière	Roselyne	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA-Agrocampus Ouest-Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	roselyne.corbiere@rennes.inra.fr
Corio-Costet	Marie-France	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	coriocos@bordeaux.inra.fr
Cros-Arteil	Sandrine	INRA, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TAA-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	cros@supagro.inra.fr
Dallery	Jean-Félix	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	jean-felix.dallery@versailles.inra.fr
De Freitas Pereira	Maira	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	maira.pereira@nancy.inra.fr
De Gracia	Marie	INRA, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucozé Cedex, France	marie.de-gracia@angers.inra.fr
De La Varga	Herminia	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	herminia.delavargapastor@nancy.inra.fr
Deroy	Aurélie	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	aurelie.deroy@nancy.inra.fr
Dogimont	Catherine	INRA, UR 1052 UGAFL, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	catherine.dogimont@avignon.inra.fr
Dozolme	Pascale	INRA, UR 1Z64 MycSA Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	pdozolme@bordeaux.inra.fr
Dron	Michel	Université Paris Sud, UMR 8618 IBP, CNRS-Université Paris Sud, Bât 630, 91405 Orsay, France	michel.dron@u-psud.fr

## PARTICIPANTS JJC 2014

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
Dufour	Marie-Cécile	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	dufour@bordeaux.inra.fr
Dumas	Bernard	CNRS, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP 42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	dumas@lrsv.ups-tlse.fr
Duplessis	Sébastien	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	duplessi@nancy.inra.fr
Elbelt	Sonia	INRA, UR 1052 UGAFL, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	sonia.elbelt@avignon.inra.fr
Fabre	Frédéric	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	frederic.fabre@bordeaux.inra.fr
Fermaud	Marc	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	marc.fermaud@bordeaux.inra.fr
Fernandez	Diana	IRD, UMR 186 RPB, IRD-Université Montpellier 2-CIRAD, 911 avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France	diana.fernandez@ird.fr
Fillinger	Sabine	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	sabine.fillinger@versailles.inra.fr
Fournier	Élisabeth	INRA, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	elisabeth.fournier@supagro.inra.fr
Frey	Pascal	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	pascal.frey@nancy.inra.fr
Fudal	Isabelle	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	isabelle.fudal@versailles.inra.fr
Gachon	Claire	Scottish Marine Institute, Oban, Argyll PA37 1QA, Royaume-Uni	claire.gachon@sams.ac.uk
Gascuel	Quentin	INRA, UMR 441 LIPM, INRA-CNRS, BP 525627, 31326 Castanet Tolosan Cedex, France	quentin.gascuel@toulouse.inra.fr
Gaulin	Élodie	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP 42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	gaulin@lrsv.ups-tlse.fr
Gautheron	Nadine	INRA, UMR 1347 Agroécologie, INRA-Université de Bourgogne-CNRS, BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon, France	nadine.gautheron@dijon.inra.fr
Gitton	Vincent	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	vincent.gitton@versailles.inra.fr
Gosme	Marie	INRA, UMR 0211 Agronomie, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	marie.gosme@grignon.inra.fr

## PARTICIPANTS JJC 2014

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
Goyeau	Henriette	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	henriette.goyeau@versailles.inra.fr
Habas	Rémy	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TAA-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	remy.habas@cirad.fr
Haidar	Rana	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	rana.haidar@bordeaux.inra.fr
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
Hayden	Katherine	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	katherine.hayden@nancy.inra.fr
Henry	Charline	AgroParisTech, UMR LSTM, IRD-INRA-CIRAD-Montpellier SupAgro-Université Montpellier I2, TAA-82/J, F-34398, Montpellier Cedex 5, France	charline.henry@ird.fr
Hérail	Claude	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TAA-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	claud.heraill@cirad.fr
Keller	Harald	INRA, UMR 1355 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	harald.keller@sophia.inra.fr
Kuhn	Marie-Line	INRA, UMR 1355 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	marie-line.kuhn@sophia.inra.fr
Laloi	Gaëlle	INRA, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé Cedex, France	gaelle.laloi@angers.inra.fr
Lannou	Christian	INRA, Département SPE, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	christian.lannou@versailles.inra.fr
Laurent	Benoît	INRA, UR 1Z64 MycSA Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	benoit.laurent@bordeaux.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	Charline	INRA, UMR 1347 Agroécologie, INRA, BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon, France	charline.lecomte@dijon.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@univ-angers.fr
Leconte	Marc	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	marc.leconte@versailles.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

## PARTICIPANTS JJC 2014

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
<b>Le May</b>	<b>Christophe</b>	Agrocampus Ouest, UMR 1349 IGEPP, INRA-Agrocampus Ouest-Université Rennes 1, 65 rue de Saint Brieuc, 35042 Rennes Cedex, France	lemay@agrocampus-ouest.fr
<b>Leyronas</b>	<b>Christel</b>	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	christel.leyronas@avignon.inra.fr
<b>Malbreil</b>	<b>Mathilde</b>	Université Paul Sabatier, UMR 5546 LRSV, UPS-CNRS, Chemin de Borde Rouge, BP 42617, 31326 Castanet-Tolosan, France	malbreil@lrsv.ups-tlse.fr
<b>Marçais</b>	<b>Benoit</b>	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	benoit.marçais@nancy.inra.fr
<b>Mariette</b>	<b>Nicolas</b>	INRA, UMR 1349 IGEPP, INRA-Agrocampus Ouest-Université Rennes 1, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France.	nicolas.mariette@rennes.inra.fr
<b>Moussavou</b>	<b>Inès Nelly</b>	Université Laval, 1030 avenue de la Madeleine, local 2204, G1V 0A6, Québec, Canada	ines-nelly.moussavou.1@ulaval.ca
<b>Neema</b>	<b>Claire</b>	Montpellier SupAgro, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TA A-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	neema@supagro.inra.fr
<b>O'Connell</b>	<b>Richard</b>	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	richard.oconnell@versailles.inra.fr
<b>Õpik</b>	<b>Maarja</b>	Plant Ecology Laboratory, University of Tartu, Estonie	maarja.opik@ut.ee
<b>Panabières</b>	<b>Franck</b>	INRA, UMR 1355 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	franck.panabieres@sophia.inra.fr
<b>Papaix</b>	<b>Julien</b>	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	julien.papaix@jouy.inra.fr
<b>Pasquet</b>	<b>Jean-Claude</b>	Université Paris Sud, UMR 8618 IBP, CNRS-Université Paris Sud, Bât 630, 91405 Orsay, France	jean-claude.pasquet@u-psud.fr
<b>Pernaci</b>	<b>Michaël</b>	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	michael.pernaci@nancy.inra.fr
<b>Persoons</b>	<b>Antoine</b>	INRA, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	antoine.persoons@nancy.inra.fr
<b>Peyret-Guzzon</b>	<b>Marine</b>	INRA, UMR 1347 Agroécologie, INRA-Université de Bourgogne-CNRS, BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon, France	marinepg@gmail.com
<b>Philion</b>	<b>Vincent</b>	IRDA, 330 rang des vingt-cinq Est, Saint-Bruno-de-Montarville, Québec J3V 4P6, Canada	vincent.philion@irda.qc.ca
<b>Pigné</b>	<b>Sandrine</b>	Université d'Angers, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, UFR Sciences, 2 boulevard Lavoisier, 49045 Angers, France	sandrine.pigne@univ-angers.fr

## PARTICIPANTS JJC 2014

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
Plissonneau	Clémence	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	clemence.plissonneau@versailles.inra.fr
Ponchet	Michel	INRA, UMR 1355 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	michel.ponchet@sophia.inra.fr
Porquier	Antoine	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	antoine.porquier@versailles.inra.fr
Pujade-Renaud	Valérie	CIRAD, UMR AGAP, Université Blaise Pascal, laboratoire PIAF, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand Cedex, France	valerie.pujade-renaud@cirad.fr
Redecker	Dirk	Université de Bourgogne, INRA-Université de Bourgogne-CNRS, BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon, France	dirk.redecker@dijon.inra.fr
Rémus-Borel	Wilfried	INRA, UMR 1065 SAVE, Domaine de la Grande-Ferrade, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France	wremus@bordeaux.inra.fr
Requena	Natalia	Karlsruhe Institute of Technology, Hertzstr. 16, 76187 Karlsruhe, Allemagne	natalia.requena@kit.edu
Rosso	Marie-Noëlle	INRA, UMR 1163 BCF, Faculté des Sciences de Luminy, Bat ESIL, 163 avenue de Luminy, 13288 Marseille, France	marie-noelle.rosso@univ-amu.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
Sache	Ivan	AgroParisTech, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris Cedex 05, France	ivan.sache@versailles.inra.fr
Sannier	Mélanie	INRA, UMR 1345 IRHS, INRA-ACO-UA, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucozéd Cedex, France	melanie.sannier@angers.inra.fr
Saubeau	Guillaume	Agrocampus Ouest, UMR 1349 IGEPP, INRA-Agrocampus Ouest-Université Rennes 1, 65 rue de Saint Briec, 35042 Rennes Cedex, France	guillaume.saubeau@agrocampus-ouest.fr
Séassau	Aurélie	INRA, UMR 1355 ISA, INRA-CNRS-UNS, 400 route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France	aurelie.seassau@sophia.inra.fr
Selosse	Marc-André	Museum National d'Histoire Naturelle, Unité Origine, Structure et Évolution de la Biodiversité, 57 rue Cuvier, 75231 Paris, France	ma.selosse@wanadoo.fr
Soubeyrand	Samuel	INRA, UR546 Biostatistique et Processus Spatiaux, 84914 Avignon, France	samuel.soubeyrand@avignon.inra.fr
Steinberg	Christian	INRA, UMR 1347 Agroécologie, INRA-Université de Bourgogne-CNRS, BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon, France	christian.steinberg@dijon.inra.fr
Suffert	Frédéric	INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France	fsuffert@versailles.inra.fr



## PARTICIPANTS JJC 2014

NOM	PRENOM	ADRESSE	EMAIL
<b>Tharreau</b>	<b>Didier</b>	CIRAD, UMR 385 BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, TAA-54/K, 34398 Montpellier Cedex 5, France	tharreau@cirad.fr
<b>Thermoz</b>	<b>Jean-Pierre</b>	INRA, UMR AGAP, 20230 San Giulano	thermoz@corse.inra.fr
<b>Tran</b>	<b>Dinh Minh</b>	CIRAD, UMR AGAP, TAA-108 / 03 - Avenue Agropolis F-34398 Montpellier Cedex 5, France	dminhrriv@gmail.com
<b>Troulet</b>	<b>Claire</b>	INRA, UR 0407 Pathologie Végétale, Domaine St Maurice, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France	claire.troulet@avignon.inra.fr
<b>Van Den Bosch</b>	<b>Franck</b>	Rothamsted Research, West Common, Harpenden, Hertfordshire, AL52JQ, Royaume-Uni	frank.vandenbosch@rothamsted.ac.uk
<b>Veneault-Fourrey</b>	<b>Claire</b>	Université de Lorraine, UMR 1136 IAM, INRA-Université de Lorraine, Route d'Amance, 54280 Champenoux, France	claire.fourrey@univ-lorraine.fr
<b>Vidal</b>	<b>Tiphaine</b>	INRA, UMR 1091 EGC INRA-AgroParisTech, Route de la Ferme, 78850 Thiverval-Grignon, France	tvidal@grignon.inra.fr