



# LES APPORTS DE LA GÉNOMIQUE À L'AGROÉCOLOGIE

Bilan des projets financés sur la période 2005-2019 et perspectives pour la recherche

LES CAHIERS DE L'ANR N° 12 - SEPTEMBRE 2020

## LES « CAHIERS DE L'ANR »

traitent de questions thématiques transverses aux différents appels à projets financés par l'ANR. Cette collection, qui existe depuis 2009, met en perspective les recherches, les innovations et les avancées technologiques en cours dans un domaine spécifique. Sans prétention d'exhaustivité, son objectif est de revenir sur les enjeux sociétaux et les défis d'avenir identifiés par les communautés de recherche mobilisées sur une thématique. Les projets de recherche financés par l'ANR y sont synthétiquement présentés. Chaque cahier s'adresse aux chercheurs, aux décideurs politiques mais aussi au grand public.

Le présent cahier est le résultat d'une collaboration précieuse entre scientifiques issus des disciplines de la génomique et de l'agroécologie dans le domaine animal, microbien et végétal.

Tous les contributeurs sont remerciés.

#### **ÉDITEURS**

Isabelle Hippolyte (ANR), Emmanuel Guiderdoni (Cirad), Jannatul Mia (ANR), Bernard Hubert (INRAE).

#### **AUTEURS**

Martin Crespi, Mathieu Diribarne, Hélène Gilbert, Emmanuel Guiderdoni, Isabelle Hippolyte, Bernard Hubert, Philippe Lemanceau, Isabelle Litrico, Françoise Médale, Florence Phocas, Jerome Salse, Sébastien Treyer.

Les fiches projets ont été rédigées par les porteurs de projets et coordonnées par Jannatul Mia et Isabelle Hippolyte.

▶ Relecture scientifique et conseils : Thierry Doré, Christophe Salon

# **Présentation** du cahier

epuis sa création en 2005, l'ANR a financé des projets en génomique animale, végétale et microbienne et des projets visant à soutenir le développement d'une agriculture plus durable. Ces projets ont été subventionnés dans le cadre de programmes élaborés en concertation avec les tutelles de l'agence, les organismes de recherche nationaux et des experts thématiques.

Sur le constat que chacun de ces grands domaines de recherche avait été financé sur des programmes construits de façon indépendante, en « silo », ce cahier a pour objectif de mettre en lumière les projets de génomique qui pourraient contribuer aux recherches en agroécologie et d'autre part de proposer des voies prioritaires de recherche et de mettre en évidence des verrous en agroécologie qui pourraient bénéficier de l'apport de la génomique.

Sur la base des travaux financés par l'ANR en génomique et en agroécologie, ce cahier, dans sa première partie, présente une analyse du financement de projets de génomique animale, végétale et microbienne à intérêt potentiel pour l'agroécologie.

La deuxième partie du cahier, en s'appuyant sur les résultats acquis sur ces trois thèmes et sur la base d'objectifs à atteindre pour le développement d'une agriculture plus durable, propose des pistes de réflexion sur les travaux à mener en génomique pour appuyer les travaux en agroécologie, tant au niveau des communautés académiques à fédérer qu'au niveau de questions scientifiques clairement identifiées.

Enfin dans la dernière partie de ce document 33 projets financés par l'ANR à intérêt potentiel pour l'agroécologie font l'objet d'une fiche individuelle de présentation.

## Mobiliser l'ensemble des sciences du vivant pour la transformation profonde de nos systèmes agricoles et alimentaires : la génomique a un rôle majeur à jouer

omment rendre compatibles nos systèmes agricoles et alimentaires avec l'impératif environnemental de neutralité carbone et de protection de la biodiversité? Cette question traverse autant l'agenda politique international, la proposition de Green Deal européen qui mentionne explicitement ces deux objectifs, que l'agenda de la recherche et de l'innovation.

Cet objectif de transformation profonde, si l'on prend l'exemple du Green Deal, s'impose autant pour protéger notre environnement planétaire, que pour préserver la base de ressources et donc la viabilité de nos filières agroalimentaires, mais aussi comme un pari économique indispensable pour préparer l'économie de demain à l'échelle du continent.

La recherche et l'innovation sont alors impliquées à double titre. Tout d'abord, l'organisation de la recherche, le cadrage de ses questions prioritaires, ses priorités de financement, peuvent très bien concourir à renforcer les modèles d'affaire et les filières telles qu'elles sont organisées aujourd'hui, conduisant par exemple à une logique d'économies d'échelles et de spécialisation sur quelques productions clés. C'est cette logique qui explique les tendances à la spécialisation des régions de production, la simplification des paysages et au raccourcissement des rotations, incompatibles avec l'atteinte d'objectifs environnementaux ambitieux quels que soient les efforts individuels des agriculteurs. À l'inverse, la recherche porte en germes un potentiel de réorientation de l'innovation vers d'autres formes de conduite de l'exploitation agricole, de pilotage de l'écosystème agricole à l'échelle du paysage ou du territoire, pour tenir ensemble les objectifs économiques, sociaux et environnementaux. C'est la promesse d'une trajectoire d'innovation agroécologique.

Les instituts de recherche français comme INRA et IRSTEA (réunis aujourd'hui dans INRAE), ou le Cirad, mais aussi l'Agence nationale de la recherche et les autres établissements français de recherche, ont porté sur plusieurs années ce cadrage ou cette priorité de recherche de ré-écologisation de la recherche agronomique, ce qui est essentiel pour faire comprendre que la transition agroécologique constitue un immense enjeu d'innovation, et non pas un retour à des pratiques anciennes. Ce message a porté jusqu'à la FAO, et dans un certain nombre d'enceintes internationales pour la programmation de la recherche, notamment à l'articulation entre changement climatique, dégradation de la biodiversité, et sécurité alimentaire.

Cette perspective de tirer la recherche et l'innovation par la fixation d'objectifs radicalement ambitieux est tout à fait au cœur du Green Deal européen et des « missions » proposée par Mariana Mazzucato comme modes de pilotage de l'espace européen de la recherche : orientée par un problème concret dans nos sociétés, avec des objectifs ambitieux, et non prescriptive sur la nature des recherches à mettre en œuvre.

L'ensemble de la recherche en Sciences du vivant est donc pertinent et potentiellement mobilisable pour répondre à l'objectif de transformer l'agriculture et l'alimentation pour respecter les limites planétaires de neutralité carbone et de protection de la biodiversité. Ce cahier de l'ANR est essentiel car il démontre que la génomique, dans toute sa diversité, peut faire partie et doit faire partie de cette dynamique scientifique au service d'une interrogation sociétale. Un des enjeux majeurs de la trajectoire d'innovation agroécologique a été de décentrer le cadrage des recherches depuis une focalisation sur un seul objet, un organisme végétal ou animal pour augmenter ses performances, pour s'intéresser aux interactions entre organismes dans un paysage agricole, pour penser l'innovation en matière agronomique à l'échelle de l'écosystème, recadrage indispensable pour remettre de l'écologie dans l'agronomie. Ce cahier démontre que les frontières de la connaissance et de la recherche en génomique ne sont nullement contraintes à l'échelle de l'organisme individuel, et qu'il y a un potentiel immense à explorer l'apport de la génomique à la compréhension du fonctionnement des écosystèmes agricoles, et in fine à leur pilotage à des fins de production, avec un triple objectif de performance économique, sociale et environnementale.

Ce cahier est donc porteur d'un double message : outre la démonstration, projets à l'appui, que la génomique a une contribution majeure à apporter à cette trajectoire d'innovation, il indique aussi quelques pistes majeures des questionnements qui pourraient guider un tel agenda de recherche. En cela, il constitue une contribution majeure à la réflexion sur l'agenda de recherche, français, européen et international, et dans toute son ampleur du spectre des différentes disciplines, au service de la transformation du système alimentaire vers le développement durable. Et il constitue aussi une contribution importante à la réflexion politique sur des projets aussi audacieux que le Green deal européen, dont le débat public n'a pas encore pris la mesure à quel point il réinterroge profondément toutes les filières économiques du continent et les visions de l'innovation qui les sous-tendent : ce projet sera nécessairement extrêmement intensif en connaissances, comme l'exemple de la génomique pour l'agroécologie l'illustre.

#### **Sébastien TREYER**

Président du Comité de Pilotage Scientifique du défi « Sécurité alimentaire et défi démographique » 2016-2017 à l'ANR, Directeur général de l'IDDRI

# **SOMMAIRE**

PARTIE 1. Bilan des projets en génomique des animaux, des plantes et des microbes pouvant intéresser l'agroécologie	7
▶ Répartition des financements de l'ANR en génomique des animaux, des plantes et des microbes de 2005 à 2019	7
Les projets de génomique financés par l'ANR intéressant l'agroécologie  1) Les principaux établissements de recherche et d'enseignement supérieur impliqués  2) Répartition géographique des équipes  3) Répartitions disciplinaires des projets	9 10 11 12
PARTIE 2. Contribuer à des enjeux majeurs pour l'agroécologie et au-delà : des pistes de recherche prioritaires	14
▶ Historique et contexte actuel	14
▶ PISTE 1 - Vers une meilleure intégration multi-scalaire des données « omiques » pour une exploitation optimale en agroécologie	15
<ol> <li>Optimiser l'analyse des données massives pour la recherche translationnelle des modèles aux espèces cultivées/élevées et au service de la biologie prédictive</li> <li>Intégrer les données « omiques » pour la meilleure compréhension du fonctionnement des individus</li> </ol>	15
en interaction dans leur agroécosystème 3) Comparer les données « omiques » pour la meilleure exploitation des connaissances entre lignées/races ou espèces	16 16
<ul> <li>PISTE 2 - Caractérisation dynamique de la diversité fonctionnelle intra et interspécifique des organismes présents dans un agroécosystème</li> <li>1) Cultiver la diversité des plantes</li> <li>2) Gérer des agroécosystèmes complexes sans les réduire à leurs composantes</li> <li>3) Étudier les agroécosystèmes traditionnels pour réintroduire de la diversité</li> <li>4) Protéger et entretenir la diversité des sols</li> </ul>	18 18 19 19
<ul> <li>PISTE 3 - Optimisation des relations végétaux-microorganismes favorables</li> <li>1) Le microbiote rhizosphérique au service de la croissance et de la santé des plantes</li> <li>2) La génomique végétale et microbienne pour optimiser les interactions bénéfiques en agroécologie</li> <li>3) Caractériser et valoriser les caractères végétaux impliqués dans les interactions</li> <li>4) Caractériser et valoriser le microbiote adapté aux plantes</li> </ul>	20 21 21 21 21
<ul> <li>PISTE 4 - La génomique au service de la transition écologique en élevage</li> <li>1) Réintroduire de la diversité au sein des troupeaux</li> <li>2) Des animaux robustes face à un environnement incertain</li> <li>3) Pour une meilleure efficience alimentaire</li> </ul>	22 23 23 24
▶ Recommandations : Répondre aux objectifs et aux services attendus dans un contexte de changements globaux : un résumé en images	25
▶ Conclusion générale : Piloter la recherche par « le projet » et non pas au travers des projets !	31
PARTIE 3. 33 projets de génomique financés par l'ANR à intérêt potentiel pour l'agroécologie	33

# PARTIE 1. BILAN DES PROJETS EN GÉNOMIQUE DES ANIMAUX, DES PLANTES ET DES MICROBES POUVANT INTÉRESSER L'AGROÉCOLOGIE

#### Répartition des financements de l'ANR en génomique des animaux, des plantes et des microbes de 2005 à 2019

Faisant suite à Genoplante, programme en génomique végétale créé en 1999, qui associait la recherche publique et des acteurs privés de l'amélioration des plantes, l'ANR a lancé dès 2005 le programme « Génoplante 2010 » (2005-2010) avec pour ambition de maintenir la compétitivité de la recherche française à l'horizon 2010 dans le domaine de la génomique des plantes et en particulier l'acquisition de nouvelles connaissances sur la diversité des gènes d'intérêt et leur validation fonctionnelle. Genoplante 2010 était un programme en partenariat, entre le GIS Genoplante 2010 et l'ANR. Ce programme a encouragé la recherche en partenariat public-privé. Parallèlement un programme comparable a été lancé pour la génomique animale « Genanimal » (2007-2010) en partenariat avec le GIS Agenae, visant à favoriser la génomique des bovins et petits ruminants, des espèces d'intérêt aquacole, du porc et de la poule. En 2007, le programme de « génomique microbienne à grande échelle » a été ouvert à l'étude des microorganismes pathogènes et du microbiote intestinal.

Le programme « Émergence et maturation de projets de biotechnologie à fort potentiel de valorisation », a financé des projets dans cinq éditions de 2005 à 2008. Il s'agissait de financer des équipes académiques sur des projets de biotechnologies pour une application industrielle, présentant un intérêt économique et proposant une démarche innovante.

À partir de 2010, l'ANR a poursuivi ses financements sur un programme unique de « génomique animale, végétale et microbienne » subdivisé en trois sous axes. Ce programme clôturait un cycle visant principalement, voire quasi exclusivement dans le cas du séquençage, l'acquisition de données et de méthodes en génomique.

En 2012 -2013 les projets de génomique étaient éligibles au programme « Bioadapt », pour la production de connaissances en génétique et en biologie. Les projets devaient ambitionner la compréhension des mécanismes fonctionnels ou l'élaboration de réponses opérationnelles aux changements globaux sur une échelle allant du gène à l'espèce.

Dans le même temps, de 2005 à 2013 le programme blanc de l'ANR, de nature « bottom-up », finançait également des projets en génomique des plantes et des animaux au sein du comité « Génomique, génétique, bioinformatique et biologie systémique (SVSE6) ».

Depuis 2014 dans le cadre de l'Appel à projets générique (AAPG) du Plan d'action, les travaux de génomiques s'intégrent dans des projets de biologie fondamentale ou finalisée pour favoriser le développement d'organismes vivants adaptés aux changements globaux et aux enjeux alimentaires des années à venir, en particulier dans l'axe « biologie des animaux, des végétaux et des microbes ».

À l'international, l'ANR a financé les équipes françaises dans le cadre d'un appel à projets européen très fondamental sur la génomique végétale « ERA-CAPS - Appel à projets conjoint Europe-USA pour renforcer la recherche transnationale en sciences moléculaires des plantes ». De 2005 à 2013 les accords bilatéraux notamment avec l'Allemagne et Taïwan permettaient de financer des projets de génomique dans le programme blanc. Depuis 2014, l'AAPG permet de soutenir financièrement des équipes de recherche françaises dans le cadre de partenariats bilatéraux entre la France et l'Allemagne, Taiwan, le Mexique, l'Autriche ou le Luxembourg.

En finançant autour de 1300 projets pour un montant de l'ordre de 519 M€ (séquençage inclus) en lien avec la génomique végétale, animale ou microbienne (hors domaine humain), l'ANR a contribué à renforcer les connaissances en génomique, favorisé l'émergence ou la consolidation de partenariats public-privé dans les domaines de la génomique animale et végétale et consolidé une communauté par l'organisation de manifestations thématiques. Sur ces thématiques

l'ANR a permis en particulier (i) le financement de projets d'envergure en particulier le séquençage des génomes de la truite, de la vigne, du bananier, de la luzerne, du chêne, du chromosome 3B du blé, (ii) l'acquisition de données nouvelles sur l'organisation et la régulation des génomes et (iii) l'amélioration des connaissances sur les caractéristiques fonctionnelles des gènes sur les espèces d'intérêt pour l'Homme et sur plusieurs espèces modèles.

Concernant l'agroécologie, comme cela a déjà été largement décrit dans le cahier ANR n° 8 « Émergence de l'agroécologie et perspectives pour le futur », la succession de trois programmes thématiques :

- « ADD Agriculture et Développement Durable » (2005-2006);
- ▶ « SYSTERRA Écosystèmes, territoires, ressources vivantes et agricultures » (2008-2010);
- « AGROBIOSPHÈRE Viabilité et Adaptation des Écosystèmes productifs, territoires et ressources face aux changements globaux » (2011-2013);

a permis de lancer huit appels à projets, de financer 93 projets pour un montant de 54 M€ et a favorisé la constitution d'une approche française de l'agroécologie, fondée sur l'articulation entre les sciences biologiques, agronomiques, écologiques et sociales. Celle-ci fournit un cadre général, une vision du futur de l'agriculture, un ensemble de principes alternatifs aux modèles de production dominants aujourd'hui.

L'agroécologie n'est pas une option de plus à caractériser et labelliser, mais une dynamique pour une transition vers de nouvelles formes d'exercice des activités agricoles, de rapport aux ressources naturelles et aux territoires, au monde vivant, engendrant de nouvelles relations entre les agriculteurs et le reste de la société.

Actuellement, l'ANR continue d'encourager le développement des communautés scientifiques travaillant en agroécologie dans l'axe de l'AAPG « Dynamique des socio-écosystèmes et de leurs composants en vue de leur gestion durable ».

À l'international, l'ANR promeut fortement l'agroécologie soit dans le cadre de sa participation à des initiatives de programmation (JPI FACCE) soit dans le cadre d'appel à projets en lien avec l'agriculture et l'alimentation (ICT-AGRI-FOOD, Arimnet 2, ERANET FACCE SURPLUS, Leapagri, Sumforest, ForestValue, Prima, SusCrop, Fosc...).



# Les projets de génomique financés par l'ANR intéressant l'agroécologie

Le cahier ANR n° 8 « Emergence de l'agroécologie et perspectives pour le futur » a fait l'analyse approfondie des programmes ADD-SYSTERRA-AGROBIOS-PHERE et présenté les 93 projets financés pour 54 M€ dans sa partie « bilan ». Il ne s'agit pas de faire ici le pendant de cette analyse pour les projets de génomique, mais de présenter les projets de génomique dont les concepts, méthodes et résultats pourraient contribuer aux recherches en agroécologie.

Sur la base d'un corpus d'environ 1 200 projets en relation avec la génomique des plantes, des animaux et des microbes, financés majoritairement dans les appels à projets cités ci-dessus, un comité scientifique constitué de membres de l'ANR, de membres de comités de pilotages scientifiques qui ont suivi la programmation ANR sur les thématiques « génomique » et « agroécologie » et de chercheurs qualifiés, a établi trois listes de projets selon leur intérêt potentiel pour l'agroécologie sur la base de leur titre et du résumé du projet (cf. tableau) :

- ▶ 37 projets à fort intérêt ;
- ▶ 43 projets intéressants ;
- ▶ 49 projets potentiellement intéressants ;
- ▶ Un peu plus de 1 000 projets jugés sans rapport avec l'agroécologie.

Sur les 37 projets « à fort intérêt », et après consultations de leurs coordinateurs, 33 projets font ici l'objet d'une fiche de synthèse. Les fiches sont présentées selon les trois thèmes des ateliers du colloque « Les apports de la génomique à l'agroécologie » qui a eu lieu à Montpellier en mars 2018 : 8 pour le thème

« bioagresseurs », 11 le pour thème « diversité inter et intra spécifique » et 14 pour le thème « interactions plantes-microorganismes ».

Ces 33 projets (cf. Tableau 1) sont majoritairement issus de trois appels à projets :

- ▶ l'AAPG, qui affiche clairement depuis sa mise en place en 2014 l'importance de travailler pour une agriculture plus durable, incluant l'agroécologie;
- ▶ Bioadapt dont les objectifs majeurs étaient de développer des projets en biologie et génétique pour l'adaptation du vivant aux changements globaux tant au niveau de la compréhension des mécanismes que de solutions à mettre en œuvre ;
- des programmes non thématiques (un tiers des projets sélectionnés), lesquels étaient ouverts à des projets plutôt amont, dont certains sont ainsi susceptibles de contribuer ou d'appuyer y compris à assez court terme (éditions 2010, 2011 et 2012) le développement de dispositifs opérationnels.

Que les projets financés dans les programmes sur lesquels la génomique était centrale n'aient pas été choisis ou très à la marge (programme génomique des plantes par exemple), est sans doute lié au fait que dans les années 2005-2010 la génomique était en phase de développement en France nécessitant de définir ses méthodes, ses outils et ses ressources. Les recherches qui ont mis en œuvre ces résultats à des fins applicatives ont été développées ultérieurement. Quant aux autres programmes de l'ANR dans lesquels la génomique était éligible, mais pour lesquels la génomique des plantes et des animaux n'était pas au cœur de l'appel soit ils n'ont pas suscité de projets en lien avec l'agriculture soit les propositions pour l'agriculture n'ont pas été sélectionnées dans un contexte de compétition entre thématiques et domaines, telle que la santé humaine par exemple.

Tableau 1. Projets de génomiques financés par l'ANR et projets sélectionnés pour le cahier

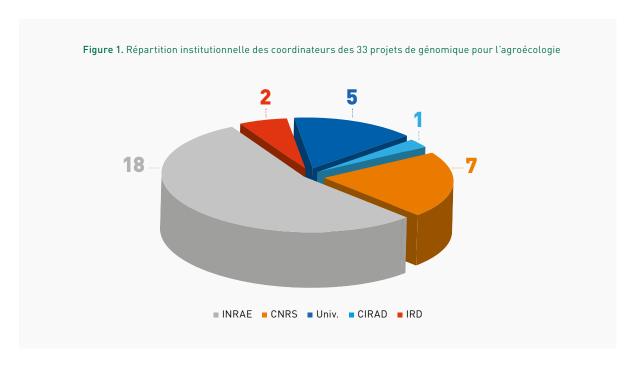
TITRE DE L'APPEL À PROJETS	ÉDITIONS	NBRE DE PROJETS FINANCÉS	NBRE DE PROJETS SÉLECTIONNÉS POUR CE CAHIER¹
AAPG	2014-2019	402	13
Bioadpat	2012-2013	38	9
Blanc, JCJC, Blanc International « génomique » et « écologie »	2005-2013	521	10
Génoplante, Génomique animale, végétale et microbienne	2005-2010	212	1
Émergence et maturation de projets de biotechnologie à fort potentiel de valorisation	2005-2012	19	-
Programmes européens	2005-2019	95	-
Programmes divers	2005-2019	66	-

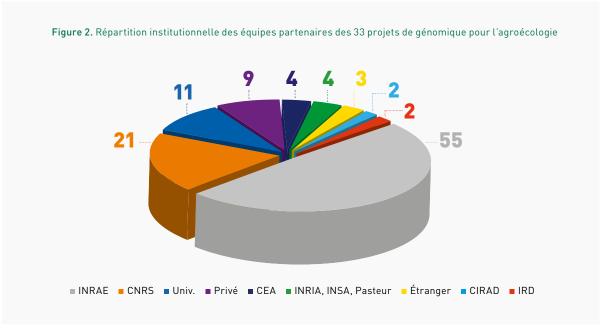
<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Pour illustrer les sessions du colloque **« Les apports de la génomique à l'agroécologie »** (Montpellier, mars 2018), 13 projets sur les 37 jugés les plus intéressants pour l'agroécologie ont été sélectionnés en gardant un équilibre entre les projets jeunes chercheurs- jeunes chercheuses (JCJC) et les projets collaboratifs, ainsi qu'entre des projets avancés et des projets récemment sélectionnés.

#### 1) LES PRINCIPAUX ÉTABLISSEMENTS DE RECHERCHE ET D'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR IMPLIQUÉS

D'un point de vue institutionnel, les projets sélectionnés sont coordonnés majoritairement par l'INRAE (54 %) (Fig. 1), suivi par le CNRS et les Universités chacun contribuant pour environ 20 % à la coordination des projets retenus.

En termes de répartition des équipes partenaires², qui constituent des consortiums d'en moyenne 3,3 équipes autour de la coordination, on observe sur la **Figure 2** que l'INRAE est également majoritaire avec 50 % des équipes partenaires de ces 33 projets, suivi par le CNRS et les Universités. Huit projets impliquent neuf entreprises privées, dont aucune n'est coordinatrice.





<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> L'affiliation des équipes est définie par leurs tutelles hébergeantes, où se font les recherches. On peut avoir dans ces équipes des chercheurs issus d'autres organismes non pris en compte dans ces données.

#### 2) RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE **DES ÉQUIPES**

Les équipes dont les travaux intéressent l'agroécologie sont situées majoritairement en région parisienne (15 à Paris et 9 dans les centres INRAE des Yvelines), viennent ensuite à égalité les régions de Toulouse et Montpellier. La France ultramarine ne compte qu'un projet localisé en Guyane qui implique 6 partenaires en métropole et à l'étranger (Fig. 3).

Au niveau des coordinations de projets avec 8 coordinations c'est la région de Toulouse et en particulier le centre INRAE de Castanet Tolosan (7 coordinations) qui arrive en tête suivie de la région parisienne (4 dans l'Essonne et 3 dans les Yvelines), puis Montpellier avec 5 coordinations.

Une analyse complémentaire montre que les projets associent des partenaires répartis sur l'ensemble du territoire et que pour un projet donné le partenariat entre équipes locales est quasi inexistant.

Si l'on compare la carte de répartitions des 111 partenaires et coordinateurs des projets présentés dans ce cahier (Fig. 3), à la répartition géographique des 501 équipes qui ont proposé un projet en lien avec la génomique dans le comité « Biologie des animaux, des organismes photosynthétiques et des microorganismes » de l'AAPG générique 2019 (Fig. 4). La représentation de la mobilisation d'équipes pour l'AAPG 2019 correspond à une bonne représentation de la communauté scientifique qui effectue des recherches en génomique au sens large pour l'agriculture et l'élevage. On retrouve sur ces deux figures les mêmes départements de forte présence, à l'exception des départements de la région PACA, de l'Alsace et de la Bretagne occidentale, dont les projets financés n'ont pas ou peu été retenus pour ce cahier.

Figure 3. Répartition géographique des 111 équipes participant aux 33 projets de génomique pour l'agroécologie

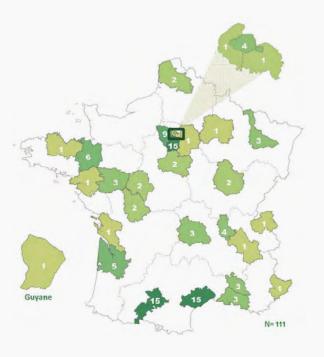
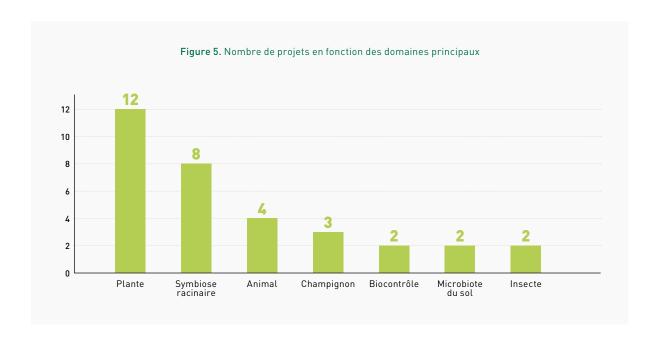


Figure 4. Répartition géographique des 501 équipes partenaires des pré-propositions soumises à l'ANR en 2019 dans l'axe « Biologie des animaux, des organismes photosynthétiques et des microorganismes »



## 3) RÉPARTITIONS DISCIPLINAIRES DES PROJETS

Les projets retenus sont très majoritairement axés sur le domaine végétal (Fig. 5) en s'intéressant à la plante, y compris l'arbre, et à son fonctionnement (12), aux symbioses racinaires fixatrices d'azote (8), aux champignons (3), au microbiote du sol (2), aux insectes ravageurs des cultures (2) ou enfin au biocontrôle pour la protection des cultures (2). Seuls, 4 projets sont en lien avec les animaux d'élevage.



La Figure 6 décrit la composition disciplinaire des équipes (mots clefs des thèmes de recherche de l'équipe) qui mènent les 33 projets présentés.

Trente-deux projets intègrent des équipes des sciences biologiques. Ces équipes relèvent d'un large éventail de disciplines : biologie, entomologie, éthologie, génétique, génomique et disciplines « omiques » (métabolomique, protéomique, transcriptomique ...), microbiologie, physiologie, phytopathologie, virologie.

Parmi eux, seize projets sont menés exclusivement par des équipes des sciences biologiques et incluent sept projets jeunes chercheuses-jeunes chercheurs (JCJC) (AATTOL, AeschyNod, DeCoD, INCITE, LCOinNON-LEGUMES, POLLINET, SymbioMaize). Ces projets JCJC par définition n'impliquent qu'une seule équipe et sont sélectionnés notamment sur leur caractère novateur par rapport aux thèmes dominants de leur unité.

Seize autres projets associent des équipes de trois autres champs disciplinaires en plus des équipes des sciences biologiques :

- ▶ 10 projets associent des équipes d'écologie (écophysiologie, écologie fonctionnelle...)
- ▶ 6 projets associent des équipes des sciences de la matière (chimie, chimie analytique...)
- ▶ 6 projets associent des équipes de bioinformatique, statistiques, modélisation...

Quatre projets associent des équipes de trois champs disciplinaires : MeCC, ODORSCAPE, GANDALF, ADA-SPODO (Fig. 6).

Le trente-troisième projet, HerbiFun, est mené conjointement par des équipes des sciences de la matière et des sciences mathématiques.

Figure 6. Répartition des projets en fonction de l'interdisciplinarité des partenaires en sciences biologiques, sciences mathématiques, sciences de la matière et sciences environnementales

#### Sciences biologiques AATTOL AeschyNod DeCoD INCITE LCOinNONLEGUMES POLLINET SymbioMaize SYMNALING AdaptInWild ChickStress EPISYM **FLAG MICROFEED** REGULEG **PHEROTOX** WHEATSYM Écologie ABC-PaPoGen ADA-SPODO COMBICONTROL Écologie BacterBlé fonctionnelle **EUMETASOL PRAISE** MeCC **GANDALF UNLOCKP ODORSCAPE** ADA-SPODO miPEPiT0 SHAPE SecPriMe<sup>2</sup> **REPLAY** Sciences de **Bio informatique** StrigoPath ChickStress **Statistiques** la matière Modélisation HerbiFun



# PARTIE 2. CONTRIBUER À DES ENJEUX MAJEURS POUR L'AGROÉCOLOGIE ET AU-DELÀ : DES PISTES DE RECHERCHE PRIORITAIRES

# Historique et contexte actuel

La génomique est née à la fin du précédent millénaire en bénéficiant des progrès associés de l'informatique et de l'analyse automatisée à haut débit des échantillons biologiques, dont l'efficience n'a fait que s'améliorer durant ces 20 dernières années (voir les progrès spectaculaires sur les technologies de séquençage des acides nucléiques). La génomique analyse et intègre les composantes d'information biologique issues des différents niveaux d'organisation et de fonctionnement d'un organisme ou d'une communauté d'organismes ; (épi-)génome, transcriptome, protéome, fluxome, métabolome, ionome et phénome. La génomique repose sur le code génétique, un langage universel intégrateur qui crée des ponts non seulement entre les disciplines, mais également entre les organismes étudiés.

Le suffixe commun de ces différents « omiques » reflète une analyse globale, dérivée du concept holistique de biome, car ils ont pour ambition de décrire la structure, le fonctionnement et la régulation du génome de l'ensemble des organismes présents dans un écosystème, et de disséquer les interactions entre ses composantes, ainsi que les rôles joués par le milieu dans l'expression phénotypique de ces différentes composantes. L'enjeu aujourd'hui est d'intégrer les réponses des organismes aux facteurs biotiques et abiotiques aux différentes échelles d'organisation et de régulations. Pour cela, la génomique s'appuie à la fois sur les grandes masses d'informations hétérogènes issues d'omiques multiples obtenues aux différents niveaux d'organisation et sur les données issues des séries temporelles, afin de corréler ces données entre elles. L'objectif est d'optimiser ces interactions pour favoriser la durabilité et la résilience des futurs agroécosystèmes.

On admet couramment que l'agroécologie est constituée de trois dimensions inséparables : pratique, politique et scientifique. Cette dernière renvoie notamment aux recherches visant à préserver et valoriser la biodiversité et les processus biologiques pour couvrir à la fois les attentes de production et l'ensemble des autres services écosystémiques fournis par les agroécosystèmes, en réduisant l'usage d'intrants de synthèse. Elle nécessite donc, entre autres, de caractériser, comprendre et valoriser la biodiversité fonctionnelle pour optimiser les régulations biologiques au sein des agroécosystèmes afin d'améliorer les fonctionnalités de ces agroécosystèmes et de concevoir des pratiques qui permettent leur pilotage dans la durée. Tout comme la génomique, il s'agit d'observer, de décrire, de comprendre pour ensuite optimiser des interactions et régulations complexes et dynamiques entre des composantes biologiques présentes dans un système -ici l'agroécosystème, et donc, le plus souvent, sous l'effet des activités humaines dans un contexte de changement global (en particulier climatique). Il s'agit ainsi de comprendre l'effet des structures génétiques/spécifiques du matériel végétal et animal ainsi que l'effet des pratiques de cultures et d'élevage sur ces fonctionnalités afin de concevoir et développer des modes de production viables économiguement, respectueux de ceux qui les mettent en œuvre et contribuant positivement aux enjeux environnementaux (fonctionnalité des sols, cycles des nutriments, conservation de la biodiversité, atténuation des changements climatiques, qualité de l'eau ...).

L'agroécologie, nécessitant de mieux comprendre les interactions entre les organismes présents au sein des systèmes de culture et d'élevage soumis d'autre part aux variations de leur environnement, peut bénéficier des avancées de l'exploitation des données « omiques » au travers d'au moins trois approches :

1) décrire qualitativement et quantitativement la diversité des communautés vivantes en interaction dans un agroécosystème, notamment grâce à l'essor de la métagénomique;

- 2) étudier aux différentes échelles spatiales et temporelles les interactions entre les composantes biologiques présentes au sein d'un agroécosystème, ce qui représente un des domaines de la biologie intégrative, de l'écologie moléculaire ou de la biologie des systèmes;
- 3) transférer de facon rapide et efficace des résultats obtenus sur une espèce modèle ou de référence, qui a fait l'objet de nombreux travaux de génomique, à l'ensemble des espèces apparentées pour lesquelles les mêmes fonctionnalités sont recherchées, on parle de recherche translationnelle.

L'intégration de ces trois approches à différentes échelles d'organisation devient un enjeu majeur pour la compréhension des interactions bénéfiques ou antagonistes existant au sein d'un agroécosystème. Il s'agira désormais de tendre vers une approche fonctionnelle pour (i) définir comment la dynamique des réseaux de régulations est influencée par l'environnement et comment cet environnement impacte le phénotype et la diversité des plantes, des animaux et des microorganismes, et leurs interactions et (ii) formuler des hypothèses sur la fonctionnalité d'un groupe ou réseau de régulateurs « omiques » entre espèces apparentées. Cette évolution fonctionnelle de la biologie intégrative et de la recherche translationnelle permettra de développer des approches prédictives sur les capacités de différentes lignées/races d'une même espèce ou de différentes espèces à être utilisées pour les mêmes fonctionnalités.

L'intégration des données « omiques » à l'échelle des individus représentatifs d'une espèce et présents au sein d'un agroécosystème, doit rendre également compte d'une vision dynamique des systèmes biologiques en considérant plusieurs niveaux d'organisation (des cellules à l'organe qu'elles composent, voire à la communauté pour les microbes), de temps (pluriannuel) et d'espace (jusqu'au paysage).

L'intégration des données « omiques » à l'échelle des espèces ou familles d'espèces permet à terme de mener des approches de biologie prédictive, en modélisant l'impact de la régulation et la fonction de gènes sur un phénotype d'intérêt chez une espèce à partir des connaissances « omiques » acquises sur les modèles (recherche translationnelle).

Cette évolution conceptuelle de l'intégration des données « omiques » doit permettre une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires et cellulaires de la réponse phénotypique pour des caractères majeurs entrant dans une conception agro écologique de l'agriculture et de l'élevage (utilisation des ressources, immunité, tolérance aux contraintes du milieu, optimisation des interactions biologiques...). Elle doit permettre d'aller jusqu'à la découverte de biomarqueurs prédictifs (c'est-à-dire les polymorphismes fonctionnels) des espèces cultivées et élevées, de leurs bioagresseurs et des organismes synergiques à l'échelle des génomes et du métagénome, voire jusqu'aux réseaux d'interactions de ces variations « omiques » causales (interactome).

#### ▶ Piste 1 :

#### Vers une meilleure intégration multi-scalaire des données « omigues » pour une exploitation optimale en agroécologie

#### 1) Optimiser l'analyse des données massives pour la recherche translationnelle des modèles aux espèces cultivées/élevées et au service de la biologie prédictive

La réduction constante des coûts des technologies «omiques» (génomique, transcriptomique, protéomique, métabolomique, phénotypique...) permet aujourd'hui de produire des données volumineuses, hétérogènes, de grande dimension et à différents niveaux d'organisation du vivant, faisant passer la biologie à l'ère des données massives. Il est désormais crucial de développer et de rendre accessible à l'ensemble de la communauté scientifique, dont les biologistes et les agronomes, les outils et les méthodes, mais aussi les infrastructures (plateformes). L'exploitation de ces nouvelles technologies d'observation du fonctionnement du vivant permettra la compréhension fine des processus biologiques complexes (déterminismes du développement des organismes, de maladies, de mécanismes adaptatifs...), écologiques, mais aussi de réactions aux changements globaux (notamment climatiques). Ceci impose de redéfinir les processus et les méthodes qui permettent de stocker, interpréter, interroger et visualiser ces données et surtout de réussir leur intégration.

L'analyse de ces grandes masses de données constitue actuellement un goulot d'étranglement nécessitant le développement d'outils performants et fiables, capables de traiter des données hétérogènes en terme de dimension (large nombre de variables mesurées), d'échelle (des centaines de millions voire milliards de données par expérience), de résolution (pouvant inclure des données manguantes), de temps (jusqu'à plusieurs semaines et mois d'analyse), d'hétérogénéité (séquence, intensité, spectre...), de nature (qualitatives, quantitatives...), et de formats (tableau, graphes, texte...).

# 2) Intégrer les données « omiques » pour la meilleure compréhension du fonctionnement des individus en interaction dans leur agroécosystème.

Dans le domaine agricole où ces données « omiques » sont de plus en plus produites, les défis technologiques sont majeurs pour identifier les associations de variants « omiques » expliquant la variabilité biologique (notamment les phénotypes) observée aux différents niveaux d'organisation du vivant (la cellule, le tissu, l'organe, l'individu, la population, le peuplement) constituant un agroécosystème. Il apparaît désormais clairement que ce n'est qu'au terme de l'intégration des connaissances du fonctionnement d'un individu à ses différents niveaux d'organisation que pourront être mis en évidence les mécanismes clés liés notamment au développement, à l'adaptation ou à la tolérance à des contraintes. Cette intégration est nécessaire pour (1) gérer, organiser et structurer ces méta-données afin d'en améliorer l'exploitation, (2) développer un environnement intégré permettant d'en extraire plus facilement l'information interprétable, (3) filtrer les relations pertinentes entre les données afin de les hiérarchiser, (4) identifier des relations significatives entre données hétérogènes, et (5) délivrer à l'utilisateur une carte de connaissances avec laquelle il peut interagir via une interface personnalisable.

## Enjeu: Intégrer différents niveaux d'organisation

Le caractère standardisé des données « omiques », appuyé par la modélisation appliquée à ces données, peut aider à l'intégration de différents niveaux d'organisation (cellule-organe-organisme-population/communauté-parcelle-paysage/territoire) permettant de définir des déterminants fonctionnels entrant dans l'optimisation des services écosystémiques.

De même, cela devrait permettre l'emboitement de séries d'approches plus réductionnistes portant sur l'influence des pratiques agricoles ou des facteurs climatiques sur le fonctionnement des agroécosystèmes, vers une vision plus holistique et de définir ainsi des leviers d'action plus efficaces. La validation, le suivi et l'ajustement des principes définis grâce à ces approches intégrées, pourraient se faire dans des zones ateliers labellisées ou certains dispositifs expérimentaux de longue durée de recherche bénéficiant d'un suivi temporel de leur évolution, les données et en particulier celles de génomiques collectées étant mises en accès libre.

Le développement de méthodes d'analyse des données, de modélisation, et de représentation de ces connaissances, est devenu essentiel pour l'exploitation optimale des données « omiques ». Pour répondre à cet enjeu, une thématique de recherche pluridisciplinaire (impliquant mathématiciens, statisticiens, génomiciens, généticiens, physiologistes et agronomes), pourrait concerner le déploiement de méthodes génériques (mathématiques, statistiques exploratoires ou prédictives, informatiques) d'intégration des données « omiques » répondant aux cinq critères précédents et devant être ajustables lorsqu'il s'agit d'intégrer des données « omiques » à différents niveaux d'organisation considérés comme des systèmes biologiques à part entière : l'individu (de la cellule à l'organisme entier), l'holobionte (interactions avec le microbiote), le peuplement, les populations et les espèces composant l'agroécosystème.

Notre capacité à prédire la réponse (phénotype) d'un organisme au sein de son agroécosystème face à un environnement changeant à partir des données omiques produites, passe par le développement de l'environnement nécessaire à l'intégration optimale de ces données.

# 3) Comparer les données « omiques » pour la meilleure exploitation des connaissances entre lignées/races ou espèces

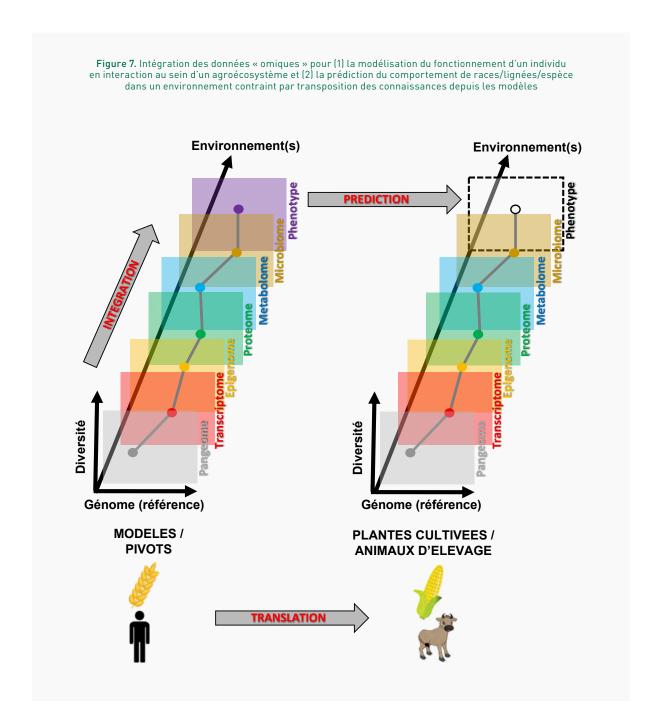
À l'échelle intra spécifique ou populationnelle (c'est-àdire les génotypes représentant la diversité d'une espèce), l'intégration de données « omiques », pour un ensemble de caractères agronomiques sur quelques représentants (lignées) d'une espèce, pourrait permettre une imputation/inférence à l'ensemble de la population pour prédire la réponse phénotypique potentielle d'une race/lignée dans un environnement donné. Ceci est (en partie) le domaine de la sélection génomique qui doit être généralisée à l'ensemble des ressources « omigues » à disposition sans se limiter par exemple à l'exploitation de variations génomiques structurales (données SNPs). À l'échelle inter-spécifique, l'intégration de données « omiques », pour un ensemble de caractères d'intérêt d'une espèce, considérée comme modèle (ou pivot) pour une famille botanique (par exemple le pois pour les légumineuses ou le blé pour les céréales), doit permettre l'imputation/inférence aux espèces proches de cette famille de la réponse phénotypique.

Chez les angiospermes (au-delà de familles botaniques majeures comme les céréales et les légumineuses), une telle intégration des données « omiques », permet de transférer les connaissances acquises des modèles aux espèces d'intérêt agronomique, par exemple en transférant les connaissances acquises chez *Arabidopsis thaliana* aux céréales, objectif difficilement réalisable jusqu'à très récemment.

Dans ce contexte, une thématique de recherche pourrait consister au développement de méthodes et approches « omique » comparative entre lignées/races ou espèces pour modéliser la régulation et la fonction des gènes chez une race/lignée à partir de l'intégration des connaissances « omiques » des modèles.

Enfin, l'évolution convergente des variations «omiques» à l'échelle intra spécifique ou inter-spécifique permet d'identifier très précisément les changements au sein des circuits de régulation « omique » au cours de

l'évolution d'un groupe de races/lignées ou d'espèces ayant acquis de nouveaux phénotypes, comparativement à un groupe de races/lignées ou d'espèces ne présentant pas ce « Trait » (littéralement, « Evo-Devo » pour Evolutionary Developmental Biology. Cette dimension évolutive de la « omique » comparative doit permettre désormais de généraliser ces approches « Evo-DEvo » pour la meilleure caractérisation des mécanismes moléculaires de nombreuses fonctionnalités recherchées en agroécologie.



#### ▶ Piste 2 :

#### Caractérisation dynamique de la diversité fonctionnelle intra et interspécifique des organismes présents dans un agroécosystème

#### 1) Cultiver la diversité des plantes

Dans un agroécosystème, la performance des plantes cultivées et leur adaptation à de faibles niveaux d'intrants (produits phytosanitaires, engrais de synthèse, apport en eau...) et aux extrêmes climatiques (alternances thermiques et hydriques) semble être influencée par les niveaux de diversité introduits ou promus (microorganismes) dans cet agroécosystème. Mais, la démonstration de la plus-value de la diversité, en particulier la diversité génétique, reste encore à mettre en évidence, ou à consolider, ainsi que les conditions dans lesquelles cette diversité s'exprime.

Il est aussi impératif d'aller au-delà de l'approche descriptive et de développer des recherches sur les mécanismes génétiques et écologiques impliqués dans le fonctionnement des couverts complexes. Les connaissances ainsi acquises permettront de définir les niveaux de diversité efficaces pour l'amélioration des services attendus. Ces études devront être décli-

nées à différents niveaux d'organisations (cellulaires, organes, plantes entières, populations, communautés), les approches « caractères phénotypiques » seront corrélées aux approches génomiques et moléculaires.

Le levier génétique qu'est l'amélioration des plantes a généralement donné lieu à des couverts semés, faiblement diversifiés, du moins dans les pays du Nord. Complémentaire à la diversité spécifique l'introduction de la diversité génétique intra et/ou interspécifique cultivée végétale dans les agroécosystèmes constitue un levier peu exploré. Il s'agira donc de définir de nouveaux critères de sélection pour l'amélioration des peuplements semés complexes avec des objectifs de production et de fourniture de services écosystémiques ainsi que de nouvelles méthodologies pour sélectionner des variétés sur la base de leur comportement en mélange et non exclusivement sur la base de leur comportement individuel.

Enjeu : Définir l'influence de l'introduction de la diversité génétique et spécifique dans les cultures pour pallier l'irrégularité de la production face aux aléas climatiques, diminuer l'impact des bioagresseurs et des invasions ou encore maintenir une plus grande fertilité des sols

En rupture, avec l'agriculture conventionnelle, l'agroécologie considère un agroécosystème dans sa globalité et dans la durée, nécessitant la caractérisation de la dynamique de la diversité fonctionnelle intra et interspécifique des organismes de l'agroécosystème. Cette diversité doit s'envisager aux différents niveaux d'organisation du vivant. Les outils de génomique permettent d'étudier précisément l'expression et l'influence de cette diversité sur le fonctionnement à différents niveaux, allant de l'individu à l'agroécosystème complexe.

De ce fait la génomique permet d'appuyer et d'accélérer le passage d'une approche taxonomique, caractérisée par un catalogue de la présence et de l'abondance des organismes présents dans un agroécosystème, vers une approche fonctionnelle telle que l'agroécologie cherche à la développer. Cette dernière considère les organismes en tant que support de fonctions génériques, dont les déterminants sont identifiés, à l'origine de la production de biens ou de services pour les populations humaines.

#### 2) Gérer des agroécosystèmes complexes sans les réduire à leurs composantes

Les peuplements complexes nécessitent de prendre en compte les interactions entre plantes du peuplement, mais aussi leurs interactions avec les organismes associés. Les interactions aériennes et souterraines (architecture, développement et morphologie racinaire, exsudats, signalisation, effet sur les propriétés biotiques et abiotiques de la rhizosphère, ...) sont considérées pour améliorer la production (qualité et quantité), la santé des plantes et les services attendus de l'agroécosystème. L'identification des caractères d'interactions favorables (avec les micro-organismes, microfaune, auxiliaires, autres variétés de la même espèce, autres plantes cultivées, plantes non cultivées...) chez les plantes cultivées constitue un axe de travail important, tout comme le développement de méthodes de phénotypage à moyen et haut débit de certains de ces caractères. L'ensemble de ces axes de recherches devront se positionner en considérant les pratiques de gestion appliquées dans l'agroécosystème et les paramètres abiotiques pour définir les leviers génétiques et agronomiques, y compris de nouvelles pratiques agricoles, favorables (production, santé des plantes, services écosystémiques).

#### 3) Étudier les agroécosystèmes traditionnels pour réintroduire de la diversité

Dans cette perspective, l'étude des agroécosystèmes traditionnels des pays situés dans ou à proximité des centres de domestication des espèces cultivées, notamment au Sud, peut apporter des informations précieuses avec l'éclairage de la génomique. Par exemple les associations maïs-haricot en Amérique centrale ou sorgho-niébé en Afrique de l'Ouest sont pratiquées de longue date et sous diverses formes. Les variétés/populations ont été sélectionnées par les paysans sur la base de leur aptitude à l'association, souvent dans des conditions de contraintes environnementales importantes et de bas niveaux d'intrants. Le typage génétique de ces populations pourrait permettre d'approcher les régions chromosomiques importantes pour les caractères favorisant ces associations, caractères potentiellement perdus dans le pool de nos variétés modernes.

Il en est de même pour le microbiote associé recruté par les espèces en mélange. Ce microbiote observé dans ces agroécosystèmes traditionnels, propagé par les échanges traditionnels de semences, devrait être plus proche de celui recruté originellement, lors de la domestication des espèces que de celui associé aux variétés modernes. En effet, les pratiques phytosanitaires modernes d'échanges des semences (traitements pesticides), notamment entre continents, et les méthodes de sélection de variétés modernes minimisant les pressions nutritionnelle ou sanitaire ont pu provoquer la modification du microbiote originel.

L'exploration de ce microbiote par des approches de génomique et de métagénomique et l'exploration des

caractères génétiques végétaux promouvant son recrutement permettrait d'optimiser les interactions biologiques correspondantes et ainsi de réduire l'usage d'intrants de synthèse.

Ainsi, l'étude de la diversité génétique végétale permettrait de vérifier si les variétés contemporaines, sélectionnées en conditions peu contraignantes (engrais, pesticides, eau...) ont conduit à la contre-sélection de caractères végétaux contribuant au recrutement de populations microbiennes favorables à la nutrition et la santé de la plante-hôte. Après identification, ces caractères végétaux pourraient être réintroduits dans les programmes de sélection végétale.

#### 4) Protéger et entretenir la diversité des sols

Les sols représentent un des principaux réservoirs de biodiversité de la planète avec des eucaryotes, des bactéries et des archées ; l'ensemble de ces organismes correspond à une biomasse très élevée (de l'ordre de 5 tonnes pour un hectare de prairie). En dépit de leur abondance et de leur diversité, les microorganismes telluriques (archées, bactéries et champignons) ont pendant longtemps été sous-estimés du fait des difficultés de leur étude. Ces difficultés sont inhérentes à la taille microscopique de ces organismes (de l'ordre du micromètre pour les bactéries) ainsi qu'à l'opacité et la structure hétérogène des sols. L'analyse de la diversité microbienne a donc nécessité des développements méthodologiques. L'extraction de l'ADN directement du sol (années 1990-2000) a rendu possible l'analyse de l'ensemble des communautés microbiennes (métacommunautés) et de leurs génomes (métagénome).

L'analyse de ces génomes est facilitée par la réduction très significative des coûts de séquencage à la faveur des développements technologiques enregistrés lors de grands projets de séquençage (par exemple, génome humain, génome du microbiote intestinal). On réalise ainsi maintenant l'immensité de la diversité microbienne du sol avec pour les bactéries 104 à 107 espèces par gramme de sol, dont beaucoup restent à identifier (à titre d'exemple, 75 % de nouvelles espèces bactériennes ont été décrites en 2012).

Au-delà, de la diversité taxonomique, ces approches de métagénomique couplées à une analyse fonctionnelle doivent permettre d'identifier de nouveaux gènes de fonctions et ainsi accéder à une meilleure compréhension du fonctionnement biologique des sols en interaction avec les plantes (et les animaux). Il s'agit d'un enjeu majeur car ce fonctionnement biologique du système sol-plante (animaux) est à l'origine de services écosystémiques essentiels pour l'humanité. En dépit de son importance, la biodiversité et plus généralement les sols sont soumis à des menaces, il est donc essentiel de mieux connaitre cette biodiversité pour la préserver et la valoriser. Dans cette perspective, de grands projets de biogéographie appliquant des méthodes moléculaires de caractérisation de la biodiversité à de larges échelles spatiales ont été lancés.

#### ▶ Piste 3 :

# Optimisation des relations végétaux - microorganismes favorables

La rhizosphère des plantes est colonisée par une myriade de microorganismes. Les interactions plantes bactéries provoquent des effets variables et les associations vont de la symbiose, qui conduit à la mise en place d'un organe d'accueil spécialisé, jusqu'à des associations plus ou moins intimes (ex. « plant growth-promoting rhizobacteria » ou PGPR). La spécificité du recrutement microbien dans la rhizosphère est contrôlée par des caractères végétaux et microbiens.

La composition des rhizodépôts élaborés par les plantes varie selon les génotypes végétaux, et les populations microbiennes telluriques répondent de façon différenciée aux composés organiques (sucres, acides-aminés, acides organiques) qu'ils contiennent. Les rhizodépôts déterminent une communication moléculaire complexe et subtile contribuant également au recrutement du microbiote rhizosphérique et à la régulation de ses activités.

Les systèmes agricoles conventionnels minimisent les interactions biotiques, en particulier celles entre plantes et microorganismes. Les cultivars actuels pourraient avoir perdu des caractères impliqués dans les boucles de rétroaction positive entre plantes et microorganismes lors des processus de sélection conduits pour l'essentiel en situations artificialisées (intrants). Par exemple, l'application d'engrais azotés de synthèse réduit l'aptitude des légumineuses à valoriser la symbiose fixatrice d'azote et la fertilisation phosphatée impacte négativement la mycorhization à arbuscules. De plus, la simplification des rotations et des assolements s'accompagne d'une réduction de la variété des rhizodépôts.

L'agroécologie représente un changement majeur de paradigme car elle met la biodiversité et les interactions biotiques au cœur de ses principes. La connaissance des interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère représente ainsi un enjeu central pour réduire l'usage d'engrais et de pesticides.

## Enjeu : Caractériser un ensemble d'organismes liés par des interactions favorables au sein d'un agroécosystème, notion d'holobionte

Le terme holobionte (du grec holos, « tout », et bios, « vie ») désigne l'entité constituée d'un organisme hôte (homme, animal ou plante) et de la cohorte d'organismes qui lui est étroitement associée et notamment les microorganismes - bactéries, virus, archées, protistes et champignons microscopiquesconstituant le microbiote. Cet holobionte présente généralement une performance supérieure à celle de l'hôte considéré de façon isolée et dépourvu de son microbiote. Concernant les végétaux, l'holobionte inclut le microbiote colonisant ses différents organes (graine, racine, tige, feuille, fleur, fruit) de façon épiphyte ou endophyte. Concernant les animaux et les humains, l'holobionte comprend le microbiote intestinal, respiratoire, cutané, vaginal, mammaire... L'identification des caractères génétiques de l'hôte

et des microbes impliqués dans les boucles de ré-

troactions positives entre hôte et microbiote de l'holobionte représente un enjeu important auquel doit contribuer la génomique. Le microbiote fonctionnel associé à un génotype hôte peut être ainsi comparé dans différents types de sols (présentant des diversités microbiennes variées) ou sous l'effet de différentes pratiques agricoles pour les végétaux et dans différents environnements ou sous l'effet de pratiques d'élevage pour les animaux. De la même façon les génotypes des hôtes peuvent être étudiés pour leurs mécanismes et leurs capacités potentiellement variables de recrutement du microbiote associé. Les approches de génomique constituent une aide précieuse pour décrypter les interactions au sein de l'holobionte, leurs régulations, leurs rôles fonctionnels et leurs réponses aux variations de l'environnement.

#### 1) Le microbiote rhizosphérique au service de la croissance et de la santé des plantes

La modulation de la croissance et de la santé de la plante hôte par le microbiote rhizosphérique représente un enjeu important en agroécologie et permet, dans le cas de la symbiose fixatrice d'azote, une diminution presque totale des engrais azotés chez les légumineuses et un enrichissement en azote des sols. Plus généralement, les populations bénéfiques du microbiote (PGPR ou autres) contribuent à :

- la nutrition de la plante via l'apport de nutriments (N, P, Fer...), la fixation de l'azote par les bactéries (en dehors des organes spécialisés où l'on parle de symbiose);
- la croissance et le développement de la plante via la production des phytohormones (auxine, cytokinine, éthylène);
- la santé de la plante via la réduction des infections racinaires par antagonisme à l'encontre des agents phytopathogènes sol (antibiose, compétition nutritive) et via l'induction des réactions de défense de la plante.

Les nouveaux biostimulants de la croissance et/ou du biocontrôle pourraient constituer de précieux auxiliaires, mais des recherches par des approches de génomique sur leur mécanisme d'action et leur efficacité doivent être entreprises.

#### 2) La génomique végétale et microbienne pour optimiser les interactions bénéfiques en agroécologie

Ces dernières années la génomique et la métagénomique ont modifié de manière significative l'étude de la diversité du microbiote présent dans la rhizosphère et ont ouvert des perspectives de recherche pour l'identification de nouvelles fonctions impliquées dans les interactions rhizosphériques, mais également pour des recherches visant la caractérisation des fonctions génériques assurées par le microbiote au-delà des fonctions individuelles et spécifiques. Outre les méthodes d'évaluation des effets positifs des microbiotes rhizosphériques, la génomique permet également le traitement des données complexes caractéristiques des systèmes agroécologiques.

Afin de comprendre l'environnement complexe entre les plantes et les microorganismes du sol, il serait notamment important d'identifier les déterminismes moléculaires et génétiques de la reconnaissance entre la plante et ses microorganismes afin de pouvoir assurer l'efficacité des échanges mutualistes inter-organismes. Ces modes d'action des microbiotes en interaction avec les racines devront être explorés dans des conditions agronomiques contrastées (minéraux, accès à l'eau...). En effet, les effets des microorganismes, y compris secondaires, sur la nutrition des plantes devront être estimés de manière holistique. Les recherches devront prendre en compte les paramètres liés au fonctionnement du microbiote et en particulier sa nutrition dans des situations minérales contrastées : des bactéries



bénéfiques dans un sol donné (ex. fixation d'azote) peuvent s'avérer délétères pour la plante dans un sol riche en azote et pauvre en phosphate (concurrence potentielle pour le phosphore).

De façon générale, lors de l'étude des caractères microbiens et végétaux, il est important de ne pas considérer uniquement ceux bénéfiques à la croissance et la santé de la plante hôte mais de prendre également en compte ceux impliqués dans les fonctions et services écosystémiques attendus de l'agroécosystème (régulation du climat : stockage de carbone dans les sols, réduction de l'émission de gaz à effet de serre, biofiltration de l'eau, etc.).

Les études de génomiques et métagénomique sont également appropriées pour identifier les caractères végétaux et microbiens et les mécanismes impliqués dans le recrutement et dans l'expression des activités des populations bénéfiques.

#### 3) Caractériser et valoriser les caractères végétaux impliqués dans les interactions

L'identification et la caractérisation des caractères végétaux, y compris ceux du recrutement, impliqués dans les interactions bénéfiques avec le microbiote rhizosphérique, puis leur introduction dans des cultivars modernes constituent une formidable opportunité de mieux valoriser les photosynthétats dédiés aux rhizodépôts, pour la nutrition et la santé de la plante, en situation de faible usage d'intrants de synthèse (pesticides, engrais de synthèse).

Pour mieux connaître les caractères végétaux et microbiens impliqués dans les boucles de rétroaction positives, la première stratégie vise à introduire dans les plantes des caractères végétaux favorables précédemment isolés pour promouvoir (i) le recrutement de gènes de fonctions microbiens bénéfiques à partir des populations microbiennes telluriques ainsi que (ii) l'aptitude de la plante à répondre aux activités bénéfiques résultant de ces gènes.

Il s'agit également de valoriser les processus de facilitation et de complémentarité entre plantes cultivées ainsi que les processus de compétition entre plantes cultivées et adventices tout en les maintenant éventuellement à un niveau suffisant pour la fourniture des services attendus (en particulier pollinisation). Le choix d'associations végétales visant à promouvoir la biodiversité, ou des populations et activités microbiennes favorables, doit s'inscrire dans le temps (rotation) et dans l'espace (assolement). Dans ce cadre les outils de génomique, la possibilité de traitements des données massives générées et la modélisation sont incontournables.

## 4) Caractériser et valoriser le microbiote adapté aux plantes

La question de la valorisation de ces caractères végétaux dans des sols qui ne présentent pas la même diversité taxonomique doit être également considérée sur la base d'un possible « core » (noyau) microbiote fonctionnel associé au génotype végétal.

Des recherches sur l'identification du « core » microbiote fonctionnel associé à des génotypes d'espèces agronomiques doivent être poursuivies en valorisant les ressources génétiques végétales de ces espèces et en testant la généricité du microbiote fonctionnel associé à ces génotypes végétaux dans des sols différents. Les outils de génomique et en particulier ceux à haut débit sont particulièrement utiles.

Les souches microbiennes non symbiotiques inoculées dans la rhizosphère présentent une faible compétitivité, confrontées au microbiote tellurique résident. La stratégie de transmettre les bactéries à la semence en inoculant les fleurs nécessite de mieux connaître les mécanismes de la colonisation florale et la transmission à la graine.

#### ▶ Piste 4:

# La génomique au service de la transition écologique en élevage

Concernant plus particulièrement l'élevage, Dumont et al. (2013)³ proposent cinq grands objectifs pour accompagner la transition vers des systèmes agroécologiques respectant les animaux et l'environnement et valorisant au mieux les biomasses disponibles, les effluents et les produits animaux :

- réduire les intrants nécessaires aux productions animales en augmentant le rendement d'utilisation des ressources limitantes (azote, phosphore, ...) et en limitant l'utilisation de ressources alimentaires humaines,
- limiter les rejets polluants au niveau des systèmes d'élevage notamment en optimisant l'efficience des ressources alimentaires et en valorisant les effluents,
- ▶ adopter des pratiques d'élevage préservant la santé et le bien-être des animaux tout en réduisant les intrants médicamenteux et hormonaux en mobilisant les capacités d'adaptation des animaux,
- ▶ favoriser la diversité des ressources et la complémentarité de profils animaux variés au sein des systèmes d'élevage pour renforcer leur résilience,
- ▶ développer des pratiques de gestion des couverts (prairies permanentes, agroforesterie...) contribuant à préserver la biodiversité des agroécosystèmes et à assurer la fourniture de services écosystémiques.

Les approches de génomique sont utilement mobilisées au service de ces cinq objectifs, à titre d'exemples :

- la sélection génomique pour accroître l'originalité génétique des reproducteurs;
- la nutrigénomique pour étudier l'utilisation digestive et métabolique des composants alimentaires et la genèse des rejets polluants,
- la génomique et métagénomique microbienne pour décrypter le rôle du microbiote digestif dans la production de méthane chez les ruminants et des déchets azotés:
- la combinaison d'approches « omiques » descriptives pour caractériser la diversité génétique et fonctionnelle des éléments des systèmes d'élevage,
- les approches de génomique fonctionnelle pour comprendre la régulation des grandes fonctions et les capacités adaptatives des animaux,
- l'épigénétique pour élucider l'impact des facteurs environnementaux biotiques et abiotiques sur l'expression des gènes et des phénotypes.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Dumont B., Fortun-Lamothe L., Thomas M., Jouven M., Tichit M., 2013. Prospects from agroecology and industrial ecology for animal production in the 21st century. Animal 7: 1028–1043.

#### 1) Réintroduire de la diversité au sein des troupeaux

Parmi les cinq objectifs de l'agroécologie appliquée à l'élevage, celui concernant la valorisation de la diversité des profils animaux intra-élevage est sans nul doute le plus en rupture avec les pratiques et les recherches conduites jusqu'à ce jour. Il s'agit de trouver les modalités d'une gestion durable (voulue et maîtrisée) d'une diversité d'espèces ou de profils génétiques variés intra-espèce au sein d'un même système. Cette approche n'en est qu'à un stade préliminaire et se heurte aux besoins des éleveurs en termes de conduite simplifiée des animaux et d'homogénéisation des lots à

Pourtant, des bénéfices certains peuvent en être espérés notamment pour gérer la santé des troupeaux. Par exemple, le pâturage mixte de diverses espèces herbivores peut réduire la charge parasitaire des pâtures par effet de dilution en agents pathogènes spécifiques à chacune et améliorer l'utilisation des ressources pâturées. Intra-espèce, il s'agit toutefois encore de démontrer (au-delà de simulations théoriques) la réalité des effets escomptés d'une diversité de profils animaux intra-troupeau sur la résilience des systèmes de production et leur efficience globale.

L'apport de la génomique, notamment en caractérisant finement les différents profils génétiques et leurs réponses à des fluctuations de l'environnement, pourrait à terme permettre de proposer des stratégies de sélection pour des populations en mélanges de diverses races/lignées ou pour une utilisation en croisement permettant de mieux répondre aux besoins des systèmes à faible niveau d'intrants.



#### 2) Des animaux robustes face à un environnement incertain

Les enjeux agroécologiques pour l'élevage nécessitent l'acquisition des connaissances sur les interactions entre l'animal et son environnement (ressources alimentaires, logement, climat, congénères, autres espèces animales, homme, pathogènes, microbiotes...). Les réponses passent aussi par la recherche d'animaux plus efficients pour transformer les ressources alimentaires et capables d'exprimer leur potentiel de production dans une large gamme de conditions climatiques et de systèmes d'élevage et présentant également une adaptabilité accrue (climat, pathogènes, aléas économiques).

Face au changement climatique, la durabilité des systèmes de production requiert des animaux résistants aux stress climatiques et à leurs conséquences (chaleur, humidité, variabilité de la disponibilité des ressources alimentaires...). C'est d'autant plus crucial dans les pays tropicaux et pour les systèmes de production à bas intrants (alimentation, énergie, eau, et médicaments).

La recherche d'une plus grande robustesse devient une priorité, dans un contexte où les conditions d'hébergement évoluent avec davantage de "lien au sol", qui provoque une exposition accrue aux aléas climatiques et potentiellement aux pathogènes.

Ces objectifs nécessitent de développer les connaissances sur la plasticité du génome et sur ses liens avec les capacités d'adaptation des animaux. Concrètement, il s'agit de mieux caractériser les notions de robustesse et de capacité de résilience des animaux, et de manière plus large celles des systèmes d'élevage. Dans ce champ d'exploration, l'adaptation à la chaleur et la résistance aux maladies sont des éléments clef. Il a en effet été montré que même des états sub-cliniques entrainent des baisses de performance. De nouveaux caractères sont introduits dans les programmes de sélection pour améliorer la robustesse des animaux dans une gamme variée de systèmes d'élevage et permettant la procréation puis la diffusion de nouveaux génotypes.

L'accès dans le domaine animal à des techniques d'exploration fonctionnelle toujours plus performantes notamment basées sur des approches « omigues » et des approches de modélisation ouvrent des perspectives d'investigation nouvelles pour comprendre de plus en plus finement les relations fonctionnelles entre le phénotype de l'animal, son génotype et le milieu dans lequel il s'exprime.

Dans ce contexte, les recherches en sciences animales (nutrition, reproduction, neurosciences et éthologie, physiologie de l'adaptation, santé animale, génétique et génomique, économie et sociologie) devront favoriser l'interdisciplinarité, intégrer statistiques et modélisation, pour être plus systémiques et prédictives et in fine identifier des leviers pour le développement de systèmes de production compatibles avec l'agroécologie.

La sélection génétique, en utilisant les données « omiques », permet l'intégration de différents niveaux d'organisation et d'apporter des réponses « gigogne » depuis l'individu jusqu'aux systèmes d'élevage incluant les interactions entre les organismes et leur environnement. Il ne s'agit pas de sélectionner un animal « type » pour les systèmes agroécologiques, mais de préserver une diversité génétique suffisante intra et inter populations, et d'encourager, en complément des races/ lignées à large diffusion, l'utilisation de races aux performances bien adaptées à une production locale et durable, des animaux aux profils variés et adaptés à la diversité des milieux et des conduites d'élevage.

La sélection génomique facilite les évolutions et permet une amélioration génétique à moindre effectif d'animaux phénotypés, dans chaque système d'élevage, que la sélection sur performances et pedigree.

Les outils « omiques » permettent aussi d'étudier les régulations épigénétiques associées aux variations d'environnement sur l'expression du potentiel génétique des animaux. Ils permettent d'envisager la dissociation de certains antagonismes génétiques entre aptitudes animales (production/reproduction; production/santé...) afin d'améliorer la robustesse des animaux. Ils permettent en particulier de mieux comprendre l'effet des évènements durant la période périnatale, qui sont mal connus et pourraient être utilisés comme leviers pour optimiser les conditions d'élevage permettant aux animaux d'exprimer pleinement leur potentiel de production.

Ces approches pourraient enrichir les techniques de sélection et de diffusion de progrès génétique dédié à certains environnements, des pratiques innovantes de coadaptation du milieu et de l'animal.

Par ailleurs, l'évolution et la diversification des systèmes d'élevage, ainsi que la mondialisation des échanges d'animaux et de produits, amènent à considérer les interactions génotype x environnement dans la prédiction des valeurs génétiques, et à évaluer directement les performances des animaux dans des systèmes à moindres intrants, notamment alimentaires et médicamenteux, ce qui encore récemment n'était pas possible dans ces systèmes. En déconnectant le calcul de la valeur génétique des candidats à la sélection de l'obtention des phénotypes, l'évaluation génomique permet de sélectionner dans un environnement donné en ciblant la production dans un autre, à condition d'avoir une bonne connaissance des effets dans chaque milieu d'élevage.

#### Enjeu: Aborder la complexité des réseaux d'interaction et de régulation chez et entre les organismes présents au sein des agroécosystèmes

L'agroécologie considère un agroécosystème dans sa globalité et intègre les interactions entre organismes sauvages et domestiques, sous l'effet des activités humaines. La génomique pourrait permettre une déconvolution de la complexité par la construction de réseaux d'interactions. La génomique permet également les approches translationnelles entre organismes sauvages/cultivés/ élevés pour modéliser et à terme prédire comment leurs interactions contribueront à leur adaptation à l'environnement, à la production agricole végétale et animale (santé, productivité et qualité des produits) et à la fourniture de services écosystémiques en situation de faible usage ou d'absence d'intrants de synthèse (engrais, pesticides, produits vétérinaires...).

#### 3) Pour une meilleure efficience alimentaire

Les efforts sont aussi à poursuivre sur l'amélioration de l'efficacité alimentaire afin de diminuer le ratio biomasse consommée/biomasse produite. La capacité d'adaptation des animaux à la valorisation de l'herbe pour les ruminants, d'aliments de moindre qualité pour les monogastriques tout en limitant les rejets dans l'environnement sont également des aptitudes prioritaires à sélectionner. Des approches métagénomiques et nutrigénomiques et des recherches complémentaires sur les productions végétales (valorisation de co- et sous-produits des cultures, remplacement du soja...), pourraient participer aux objectifs d'efficacité alimentaire notamment au travers de la caractérisation des interactions génotypes animaux x microbiote x ressources alimentaires.

## RECOMMANDATIONS

# Répondre aux objectifs et aux services attendus dans un contexte de changements globaux : un résumé en images

Dans le cadre de nos réflexions et échanges entre chercheurs en génomique et en agroécologie, qui ont conduit à l'élaboration de la partie prospective de ce cahier, nous avons identifié des verrous cognitifs et méthodologiques sur des enjeux d'importance pour l'agroécologie que la génomique pourrait participer à lever.

De façon transverse à plusieurs enjeux, la génomique pourrait participer à optimiser les performances et les services attendus par la valorisation de la biodiversité, à caractériser les fonctions assurées par les êtres vivants dans les agroécosystèmes, à définir les évènements précoces permettant de prévoir et de favoriser des phénotypes adultes ou à déterminer les interactions entre organismes favorables au fonctionnement et à la durabilité des agroécosystèmes (conservation, production, restauration, protection...).

Les figures que nous présentons ci-après ne peuvent pas remplacer à elles seules les discussions, mais elles résument les voies, faisant appel à la génomique, envisagées pour atteindre des objectifs et des services attendus des agroécosystèmes dans un contexte de changements globaux.



Figure 8. La mise en évidence et la caractérisation de la plus-value d'une diversité cultivée dans les agroécosystèmes (association d'espèces, mélanges variétaux, rotations de culture...) permettra de définir les modalités optimales d'introduction de cette diversité pour améliorer la productivité, la stabilité et la santé des cultures et les services attendus en situation d'intrants réduits

#### Objectifs

#### Productivité plasticité santé des cultures

#### Services et fonctions attendus

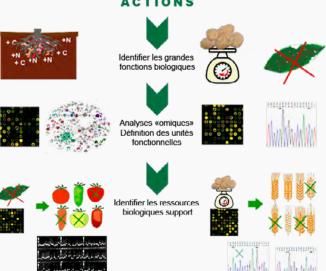
Intrants, pesticides et GES réduits ou absents - séquestration de matière organique accrue

#### Levier

Optimiser les fonctions en favorisant les organismes supports



#### ACTIONS



Mise en œuvre

#### Diffuser l'information



#### Systèmes de cultures adaptés aux contraintes



- Décrire la plus-value sur le fonctionnement des plantes ainsi associées (utilisation des ressources, résilience vis à vis des contraintes, protection contre les agressions et immunité...).
- ▶ Rechercher les caractères et les combinaisons de caractères agronomiques favorisant les interactions positives entre plantes notamment ceux favorisant le recrutement d'organismes associés : aptitude à l'association et à la valorisation de l'association.
- ▶ Identifier les gènes et réseaux de gènes sous-jacents pour ces caractères d'aptitude.
- ▶ Rechercher la variation allélique favorable de ces gènes dans la diversité naturelle des espèces associées pour l'intégrer dans les programmes d'amélioration de ces espèces.

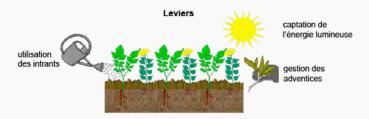
Figure 9. Contribuer à passer de la simple description de la diversité taxonomique des organismes dans un agroécosystème à celle de l'optimisation de la biodiversité fonctionnelle assurant les services attendus de l'agroécosystème

#### Objectifs

#### Optimiser l'utilisation des ressources et la santé des plantes dans les agroécosystèmes

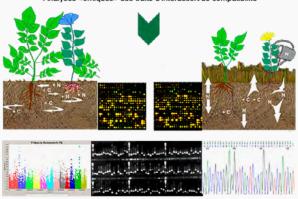
#### Fonctions et services attendus

Intrants, eau et herbicides réduits ou absents - séquestration de matière organique accrue

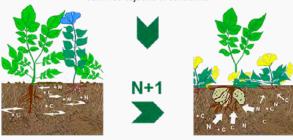


#### ACTIONS

Analyses «omiques» des traits d'interaction/de compatibilité



Systèmes de cultures maximisant l'allocation des ressources selon les objectifs et conditions



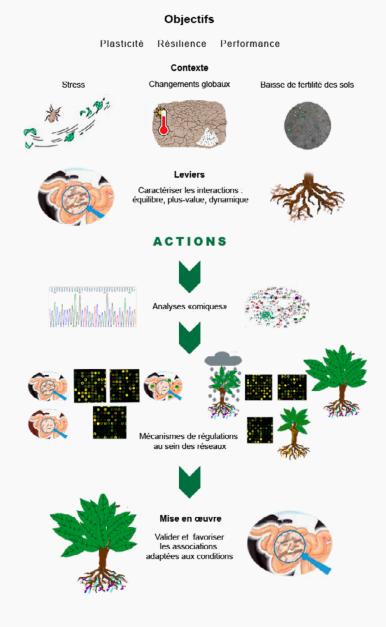
- ▶ Caractériser la diversité des fonctions accomplies par les organismes associés aux cultures.
- ▶ Identifier les grandes fonctions accomplies par ces organismes.
- ▶ Définir les unités fonctionnelles opérationnelles.
- ▶ Caractériser les ressources biologiques pour leur support à ces fonctions essentielles.
- ▶ Optimiser ces contributions en identifiant les génotypes et itinéraires techniques favorisant la présence et les activités des organismes support des fonctions et des services attendus dans l'agroécosystème.

Objectifs Plasticité Résilience Performance Contexte Changements globaux Levier Caractériser les évènements précoces/priming ACTIONS Définir leurs effets sur les traits Analyses «omigues» au cours de la vie Intégration omiques/traits Mise en œuvre Sélections et pratiques adaptées

Figure 10. Evènements précoces et construction du phénotype

- Pour les animaux, la combinaison des « omiques » permet aussi d'étudier et mieux comprendre l'effet des évènements précoces (condition de reproduction, expériences –pratiques d'élevage durant la période périnatale) sur l'élaboration du phénotype (Notion de DONAD Developmental Crisips et Health and Di DOHAD = Developmental Origins of Health and Disease) y compris les comportements.
- Pour les végétaux, on peut réaliser ces études dès le stade de la germination (Priming).

Figure 11. Caractériser et valoriser l'holobionte pour une optimisation durable du fonctionnement des agroécosystèmes



- ▶ Caractériser les recrutements d'organismes par les organismes cultivés /élevés.
- ▶ Décrire l'influence de ces recrutements sur la santé et la performance des organismes cultivés /élevés et la performance environnementale (productivité, qualité des produits, services écosystémiques)
- ▶ Décrypter les réseaux de gènes à l'œuvre au sein de l'holobionte et leurs interactions
- ▶ Favoriser le recrutement de populations bénéfiques par l'introduction d'espèces particulières et leurs associations.



# CONCLUSION GÉNÉRALE

# Piloter la recherche par « le projet » et non pas au travers des projets !

Une centaine d'équipes françaises ont été financées ces dix dernières années par l'ANR sur un peu moins de 40 projets de génomique dont les approches et les résultats présentent un intérêt fort pour l'agroécologie. Sur la base de l'analyse de ces projets, présentés dans ce cahier et des enjeux pour l'avenir, les réflexions croisées et partagées entre génomiciens et agroécologistes ont permis de mettre en exergue des voies de recherche prioritaires en génomique et qui auraient un impact fort pour l'agroécologie et sa mise en pratique tant pour les productions végétales que pour les productions animales.

L'évolution de l'agronomie vers des approches plus intégrées a reposé sur un changement conceptuel du rapport avec le monde vivant par les sciences techniques. Il s'est agi de s'appuyer sur la diversité et les dynamiques comme des atouts des fonctionnalités des agroécosystèmes plutôt que de chercher à stabiliser et homogénéiser le monde vivant, quitte à les réifier et construire des artefacts simplifiés, en donnant la priorité à la technique et à l'application des technologies. Les concepts de génétique et la pensée agronomique se donnent ainsi les moyens de rejoindre l'écologie fonctionnelle qui s'est développée quand les technologies informatiques ont permis de ne pas réduire la complexité grâce aux méthodes d'analyse des données et de modélisation.

Mettre les technologies au service de la pensée scientifique (et non l'inverse), c'est également ce qu'ont permis, au moins pour certains, la génomique et la métagénomique, en revenant sur la réification du vivant (que ces technologies permettent également à un point jusqu'ici inconnu) pour étudier les dynamiques et les interactions qui sont à l'origine même de la vie et de la diversité de ses formes. Les concepts de l'agroécologie devraient pouvoir s'appuyer et s'enrichir mutuellement avec les approches de la génomique que nous avons mises en valeur dans ce cahier, et contribuer ensemble à la conception d'une agriculture résolument moderne et durable, respectueuse du monde vivant et de son environnement, comme de ceux qui l'actionnent et l'orientent aux bénéfices des sociétés humaines.

Il a été rappelé tout au long du texte que la nature même de l'agroécologie, qui envisage l'agroécosystème dans sa globalité et l'ensemble des interactions entre ses constituants biologiques et son environnement, nécessite des approches pluri et inter disciplinaires et des pas de temps pluriannuels. Ce cahier a également révélé au long de son élaboration, que le préalable à toute interaction était l'appropriation des concepts, du vocabulaire et finalement d'une certaine façon d'envisager la recherche et de définir ses objectifs par les membres de chaque communauté.

Ce sont ainsi les objectifs (privilégier les interactions et les relations, circuler entre niveaux d'organisation, aborder la diversité comme un atout, etc.), et la vision qui éclaire le chemin pour les atteindre, qui doivent être mis en avant pour faire converger et contribuer une diversité de disciplines à la transition agroécologique. Les projets de quelques années réunissant un petit groupe d'équipes, n'en sont que les pierres, mais si l'équerre et le fil à plomb des AAP successifs sont indispensables pour monter un mur, on a d'abord, et surtout, besoin d'une vision architecturale pour en faire un bâtiment... qui soit durable et agréable à vivre!

66

L'agroécologie est l'application de l'écologie à l'étude, la conception et la gestion des systèmes agroalimentaires. Elle est par définition une pratique interdisciplinaire qui implique une redéfinition des frontières scientifiques et sociales, ce qui constitue un défi intellectuel majeur pour la recherche en agronomie. 99 (Buttel, 2003)

#### PARTIE 3.

# 33 PROJETS DE GÉNOMIQUE FINANCÉS PAR L'ANR À INTÉRÊT POTENTIEL POUR L'AGROÉCOLOGIE

Les thématiques en lien avec la génomique et l'agroéologie ont fait l'objet de programmations indépendantes. Du fait de ce constat, il nous est apparu pertinent d'examiner si des questions traitées dans des projets de génomique et les résultats obtenus pourraient enrichir les outils, méthodes et concepts mis en œuvre par les communautés scientifiques impliquées dans l'agroécologie, voire les représentations des objets qu'elles travaillent. C'est dans cet esprit que dans cette partie sont présentés 33 projets de génomique répartis en trois thèmes : 8 projets qui concernent les bioagresseurs, 11 qui étudient la diversité inter et intra spécifique et 14 qui s'intéressent aux interactions plantes-microorganismes.

L'amélioration de la régulation des bioagresseurs dans les agroécosystèmes, notamment par la santé des plantes cultivées en optimisant l'intégration des réseaux trophiques et des interactions biologiques et la gestion de la diversité

**AATTOL** p. 35 **ABC PaPoGen** p. 36 **ADA-SPODO** p. 37 COMBICONTROL p.38 **FunFit** p. 39 **GANDALF** p. 40 **ODORSCAPE** p. 41 **StrigoPath** p. 42

#### **AATTOL**

Caractérisation des bases moléculaires de la tolérance à la trypanosomose animale africaine : analyse conjointe des transcriptomes de l'hôte bovin et du parasite

#### — Rappel des objectifs

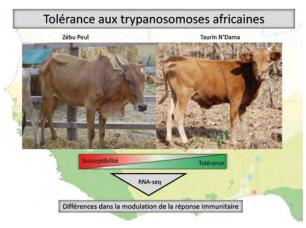
La trypanosomose animale africaine (TAA), une maladie due à des parasites du sang et transmise par les mouches tsé-tsé, affecte des millions de bovins et représente un obstacle majeur au développement de l'élevage en Afrique sub-saharienne. Seules certaines races bovines locales sont tolérantes à la maladie et peuvent être élevées sans médicament en zone d'endémie Cependant, à cause de leur faible niveau de production, elles sont progressivement croisées avec des zébus ou des races européennes sensibles, qui, elles, nécessitent des traitements récurrents en cas d'infection. D'un point de vue fondamental, le projet ANR AATTOL avait pour objectif principal de caractériser les bases moléculaires de la tolérance bovine à cette maladie parasitaire grave et d'améliorer les connaissances sur les interactions hôtes\*parasites. Cet objectif se déclinait en plusieurs objectifs spécifiques : i) caractériser les phénotypes sensible/ tolérant à la TAA de cinq races bovines d'Afrique de l'Ouest, dont certaines sont méconnues ; ii) identifier les gènes et les voies biologiques régulées par les bovins au cours de l'infection et associées à la trypanotolérance ; iii) identifier des gènes exprimés par le parasite chez son hôte ; iv) et proposer des gènes candidats associés à la trypanotolérance. D'un point de vue appliqué, ce projet vise à contribuer à une meilleure valorisation de la diversité génétique des races bovines locales, afin d'améliorer le contrôle de la maladie et d'associer la « trypanotolérance » avec un meilleur niveau de production.

#### - Résultats du projet

La méthode utilisée a consisté à analyser les phénotypes utilisés pour qualifier la trypanotolérance/sensibilité (notamment les niveaux de parasitémie et d'anémie) chez cinq races bovines au cours d'une infection trypanosomienne et à étudier la réponse du tissu sanguin de l'hôte bovin via la méthode RNA-seq. Les premiers résultats ont porté sur l'évolution clinique de la trypanosomose chez différentes races bovines ouest-africaines. Nous avons constaté des différences remarquables entre les races concernant l'évolution de l'anémie, le principal symptôme de la maladie, pendant l'infection. Ainsi la race Lagunaire, race négligée présente au sud du Bénin et du Togo, contrôle très bien l'anémie lors de l'infection, contrairement aux Zébus Peuls.

L'analyse des données d'expression des gènes bovins montre que la variance des données d'expression des gènes est principalement expliquée par la dynamique d'infection puis par la structuration de la diversité génétique des races. Globalement, nous observons que de nombreux gènes différentiellement exprimés sont communs entre les races et de nombreuses voies biologiques, associées en particulier à la réponse immunitaire, à la prolifération et la signalisation cellulaire, sont partagées. Cependant, on détecte des modulations fines de l'expression des voies biologiques entre les races bovines, portant sur la cinétique et l'intensité de ces réponses.

Les résultats nous ont convaincus de l'intérêt de la génomique pour étudier la tolérance à une maladie parasitaire chez les bovins, mais ils mettent aussi en exergue la complexité de la trypanotolérance en tant que trait multigénique, qui repose sur des interactions fines et modulées de la réponse immunitaire.



Photos d'un zébu Peul et d'un N'dama du Burkina Faso par Sophie Thévenon.

#### Production scientifique et valorisation

▶ Berthier D. et al. (2015). A comparison of phenotypic traits related to trypanotolerance in five West African cattle breeds highlights the value of shorthorn taurine breeds. PloS One, 10 (5): e0126498 (21 p.).

http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0126498

- Thévenon S. et al. (2015). Deciphering adaptation of West African cattle breeds to trypanosomosis using RNA-seq. Colloque SMBEBA, Le Hameau de l'Etoile, France, 26-29 mai. (Poster).
- Peylhard M. et al. (2016). Biological pathway in African trypanotolerant cattle breed. Colloque du labbex ParaFrap, Les Embiez, France, 2-5 octobre. (Poster). Prix du poster ParaFrap.
- Peylhard M. et al. (2017). Biological Pathways Discriminating African Trypanotolerant and Trypanosusceptible Cattle Breeds? Colloque Animal genetics and diseases, Cambridge (UK), 20-22 septembre. (Poster).
- Peylhard P. et al. (2017). Biological Pathways Discriminating African Trypanotolerant and Trypanosusceptible Cattle Breeds? Colloque Trypanosomatids, Institut Pasteur, Paris (France), 04-06 décembre. (Communication orale).

Le projet AATTOL est un projet Jeunes chercheurs, Jeunes chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a commencé en septembre 2011 et a duré 60 mois. Il a bénéficié d'**une aide** ANR de 247 000 €.

Partenaires: UMR Intertryp (CIRAD).

#### COORDINATRICE

Sophie Thévenon: sophie.thevenon@cirad.fr

# ABC PaPoGen Adaptation in Biological Control: Parasitoid Populations genomic

#### — Rappel des objectifs

L'objectif d'ABC PaPoGen est d'identifier les mécanismes génétiques d'adaptations d'insectes parasitoïdes à leur insecte hôte à long terme et à court terme. À long terme, il s'agit aussi d'obtenir des souches fiables pour la lutte biologique et de mesurer l'adaptation et ses conséquences lors du suivi d'opérations d'acclimatation d'agent de lutte biologique. Deux genres d'Hyménoptère, ennemis naturels de noctuelles ravageuses des cultures, respectivement en Europe et en Afrique, Hyposoter (Ichneumonidae) et Cotesia (Braconidae) ont été étudiés. Ils peuvent inactiver les réponses immunitaires des chenilles qu'ils parasitent grâce à la domestication ancienne d'un virus intégré (Ichnovirus et Bracovirus respectivement). Des analyses bio-informatiques ont permis de corréler des traits d'écologie (insectes et plantes hôtes) et des traits de succès reproducteur avec le polymorphisme des génomes.

#### - Résultats du projet

#### Connaissance des génomes

Établissement des génomes : *Hyposoter*, un génome assemblé et annoté automatiquement – le génome de son ichnovirus a été annoté manuellement ; *Cotesia*, acquisition et annotation des génomes 6 espèces par un consortium international ; *C. congragata*, l'assemblage du génome jusqu'au niveau chromosomique et une annotation manuelle des gènes pour plusieurs grandes fonctions : bracovirus, protéines vénimeuses, immunité, olfaction, gustation, détoxification et détermination du sexe. L'analyse des séquences de virus a révélé des mécanismes de leur domestication et de leur évolution.

#### Connaissance des populations

Données de diversité génétique et écologique de *H. dydimator*: un travail de collecte et de génotypage en France et en Espagne n'a révélé qu'une population génétiquement homogène, principalement sur une seule espèce de noctuelle, l'Armigère (*Helicoverpa armigera*), remettant en cause le caractère supposé généraliste de l'Hyménoptère. En l'absence de populations différenciées sur des espèces hôtes distinctes, il n'a donc pas été possible de mettre en relation polymorphisme génétique et gamme d'hôtes chez cette espèce. Néanmoins la comparaison du transcriptome post-parasitisme de chenilles sensibles ou résistantes a révélé des gènes impliqués dans la virulence spécifique du parasitoïde.

Chez *Cotesia sesamiae* le vaste échantillonnage sur toute l'aire de répartition, analysés par des marqueurs ADN classiques, a permis d'établir l'existence de 4 populations génétiquement différen-

ciées et de montrer que l'espèce hôte majoritaire était le principal facteur impliqué dans la différenciation. Une de ces populations présentait les critères d'une espèce distincte décrite comme Cotesia typhae. Les trois autres populations de C. sesamiae sont généralistes mais prédominent sur des espèces hôtes distinctes. Enfin, nous avons réalisé un suivi génétique et écologique de l'acclimatation de souches kenyanes de C. sesamiae introduites au Cameroun entre 2006 et 2008. Le génotypage par microsatellites de C. sesamiae collecté avant et après lâchers a révélé que les souches kenyanes s'étaient établies principalement sur des noctuelles du maïs, et plus rarement sur des noctuelles de plantes sauvages

L'identification des processus moléculaires d'évolution de la préférence pour l'hôte, et des facteurs environnementaux impliqués, permettra à terme de connaître la stabilité de la gamme d'hôte, les risques de changement d'hôtes et leur pas de temps, éléments majeurs pour la maîtrise des insectes utilisés en lutte biologique.

#### - Production scientifique et valorisation

- Audiot et al. (2014). Conservation Genetics Resources.
- Drezen et al. (2017). Current Opinion in Virology.
- Gauthier et al. (2017). Parasitology.
- ▶ Herniou et al. (2013). Phil Trans R Soc B.
- Janceck et al. (2013). PLoS ONE.
- ► Kaiser et al. (2015). Evolutionary Application.
- ▶ Kaiser et al. (2017). Zookeys.
- ► Kaiser et al. (2017). Genetica.
- ▶ Benoist et al. (2017). Genetica.
- ▶ Gauthier et al. (2018). Molecular Ecology.
- Frayssinet et al. (2019), Frontiers in Ecology and Evolution
- Legeai et al. (2020), BMC Biology

Le projet ABC PaPoGen est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en octobre 2012 et a duré 56 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 518 586 €.

Partenaires: UMR Biodiversité et Evolution des Insectes (IRD), UMR Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI) (CNRS), Laboratoire de Diversité, Génomes et Interactions Microorganismes-Insectes (INRAE) et UMR de Physiologie de l'insecte: signalisation et communication (PISC) actuellement iEES (INRAE).

#### COORDINATRICE

Laure Kaiser: laure.kaiser-arnauld@egce.cnrs-gif.fr



De gauche à droite : Cotesia typhae (Hymenoptera, Braconidae) en train de pondre dans une chenille de sésamie du maïs (crédit : R. Benoist, CNRS) ; cadavre de chenille de sésamie du maïs entouré des cocons de nymphose de C. typhae dont les larves sont sorties de la chenille pour se nymphoser (crédit : L. Kaiser, CNRS) ; Hyposoter dydimator (Hymenoptera, Ichneumonidae), adulte, et à droite, cocon de nymphose de la larve qui est sortie de la chenille dont il ne reste plus que la cuticule après le développement de la larve endoparasite. Crédit : M. Fraissinet, INRAE, L. Kaiser, CNRS.

#### **ADA-SPODO**

#### Déterminisme moléculaire de l'adaptation écologique et de la spéciation chez deux variants du lépidoptère Spodoptera frugiperda

#### — Rappel des objectifs

Aujourd'hui 20 % des récoltes sont mangées chaque année par des insectes. Parmi ces ravageurs, les lépidoptères constituent un ordre très divers avec 160 000 espèces. La diversité des insectes phytophages est plus grande que celle des lignées d'insectes non phytophages, ceci suggère que leur diversification serait liée à l'adaptation à la plante hôte. Le Lépidoptère Spodoptera frugiperda existe sous la forme de deux variants sympatriques polyphages inféodés à des gammes de plante hôte différentes, l'un, Sf-C, préférant notamment le maïs, l'autre Sf-R le riz. Les objectifs du projet étaient de caractériser les différences phénotypiques entre variants en lien avec l'adaptation à la plante et la spéciation et de relier ces différences phénotypiques à des variations moléculaires au niveau transcriptomique, épigénomique, génétique et génomique.

#### — Résultats du projet

Nous avons mis en évidence l'existence d'isolement reproducteur post-zygotique entre les variants. La mesure de traits reflétant la valeur sélective au cours du développement sur la plante préférée ou sur la plante alternative a permis de montrer que le variant maïs semble plus spécialisé à la plante maïs et que le variant riz est plus généraliste. Par analyse transcriptomique, nous avons pu montrer que les deux variants n'expriment pas la même gamme de gènes sur une même plante et diffèrent au niveau de l'expression de gènes mitochondriaux reflétant une différence au niveau de la production d'énergie. Des variations d'expression de microARNs entre variants sur une même plante ont été montrées également. Le décryptage des génomes de ces insectes polyphages a mis en évidence une expansion sans précédent des gènes codant pour les récepteurs gustatifs impliqués dans la reconnaissance des toxines émises par les plantes. Les deux variants diffèrent dans les familles de gènes impliqués dans la détoxification et la digestion de la plante. Les analyses phylogénétiques et phylogénomiques basées sur l'ADN mitochondrial d'échantillons de population naturelles soutiennent l'existence de deux clusters d'espèces correspondant aux deux variants. La génomique des populations naturelles montre une différentiation faible mais significative entre variants à l'échelle du génome nucléaire et des signatures de sélection dans des loci portant des gènes d'interaction avec la plante hôte, en faveur d'un rôle de la plante dans leur divergence.

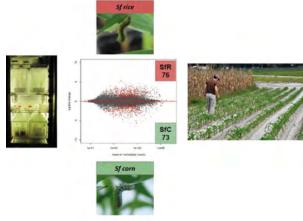
#### Production scientifique et valorisation

5 publications:

Mone et al. (2018). Characterization and expression profiling of microRNAs in response to plant feeding in two host-plant strains of the lepidopteran pest Spodoptera frugiperda. BMC Genomics, 19(1), 15p. DOI: 10.1186/s12864-018-5119-6.

#### http://prodinra.inra.fr/record/452867

- Gouin et al. (2017). Two genomes of highly polyphagous lepidopteran pests (Spodoptera frugiperda, Noctuidae) with different host-plant ranges. Scientific Reports, 7, 1-12. DOI: 10.1038/ s41598-017-10461-4. http://prodinra.inra.fr/record/411711
- Dumas et al. (2015). Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) host-plant variants: two host strains or two distinct species? Genetica, 143 (3), 305-316., DOI: 10.1007/s10709-015-9829-2. http://prodinra.inra.fr/record/306622



Expression différentielle (MA plot au centre) des gènes sur une même plante, le maïs, chez le variant maïs par rapport au variant riz maintenus en conditions contrôlées au laboratoire en France (gauche) et sur le terrain en Floride (droite) Les insectes et l'incubateur ont été photographiés par Marion Orsucci (DGIMI). L'expérience de terrain a été photographiée par Marie Frayssinet (DGIMI) Le graphe est issu du preprint Orsucci et al. DOI : 10.1101/263186.

Dumas et al. (2015). Phylogenetic molecular species delimitations unravel potential new species in the pest genus Spodoptera Guenée, 1852 (Lepidoptera, Noctuidae). Plos One, 10 (4), e0122407, DOI: 10.1371/journal.pone.0122407.

#### http://prodinra.inra.fr/record/309986

Simon et al. (2015). Genomics of adaptation to host-plants in herbivorous insects. Briefings in Functional Genomics, 14 (6), 413-423, DOI: 10.1093/bfgp/elv015.

http://prodinra.inra.fr/record/310218.

2 bases de données génomiques à la disposition de la communauté scientifique, la première en accès libre, la seconde en accès restreint (http://bipaa.genouest.org/is/lepidodb/spodoptera\_ frugiperda/) et trois thèses de doctorats initiées.

#### Ouverture internationale:

Le consortium international pour l'annotation du génome de Spodoptera frugiperda comporte 6 partenaires français et des partenaires dans 8 pays.

#### Communiqué de presse :

▶ Décryptage du génome du Légionnaire d'automne, un papillon ravageur qui envahit l'Afrique, Publié le 25/09/2017.

http://presse.inra.fr/Communiques-de-presse/genome-du-Legionnaire-d-automne

http://www.isaaa.org/kc/cropbiotechupdate/article/default. asp?ID=15827

Le projet ADA-SPODO est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en octobre 2012 et a duré 45 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 409 007 €.

Partenaires: UMR DGIMI (INRAE), UMR URGI(INRAE), UMR IRISA (INRIA), UMR CBGP (INRAE).

#### COORDINATRICE

Emmanuelle d'Alencon: emmanuelle.d-alencon@inra.fr

#### COMBICONTROL

Combinaison de stratégies de biocontrôle ciblant les populations complexes des pathogènes bactériens *Pectobacterium* et *Dickeya* des cultures de pommes de terre

#### - Rappel des objectifs

Le projet COMBICONTROL a eu pour objectifs d'évaluer, combiner et ajuster des approches de biocontrôle à la diversité des pathogènes bactériens *Dickeya* et *Pectobacterium* qui induisent les maladies de la jambe noire et de la pourriture molle sur les plants et tubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum*). A cette fin, le projet COMBICONTROL a produit des connaissances 1-sur l'efficacité de colonisation et de protection d'agents de biocontrôle, 2-sur la diversité des populations pathogènes des genres *Pectobacterium* et *Dickeya*, 3-sur les traits de virulence et/ou d'émergence des pathogènes *D. solani* et *D. dianthicola*. Le projet COMBICONTROL a organisé un transfert des connaissances vers un public scientifique (publications, communications à des conférences) et vers un public professionnel de la filière agronomique plants de pommes de terre.

#### - Résultats du projet

Des essais en plein champ et en serre ont testé l'efficacité d'agents de biocontrôle pour lutter contre l'acquisition des pathogènes *Dickeya* et *Pectobacterium* par la plante hôte. Des essais en laboratoire ont testé l'efficacité de ces agents de biocontrôle sur les populations actuelles de *Pectobacterium* et *Dickeya*, afin d'évaluer la pérennité de leur activité de biocontrôle.

Concernant la diversité des populations pathogènes, 2 nouvelles espèces *P. parmentieri* et *P. punjabense*, ont été décrites (Khayi et al. 2016a ; Sarfraz et al 2018). L'exploration d'environnements réservoirs comme les eaux de surface a permis la découverte d'autres nouvelles espèces, 2 espèces de *Pectobacterium* et 2 espèces de *Dickeya*, et et de mettre en évidence une espèce jamais décrite en France (Alic et al. 2018 ; Faye et al. 2018). Un outil moléculaire unique a été développé pour identifier les isolats des différentes espèces des genres *Pectobacterium* et *Dickeya* (Cigna et al 2017).

Des travaux de génomique ont comparé les 2 pathogènes *D. dianthicola* et *D. solani*. Ces génomes présentent plus de 3 000 gènes communs (Khayi et al. 2016b, Khayi et al. 2018a et 2018b). Certains de ces gènes communs, comme des gènes de virulence, ont une régulation différente chez *D. solani* et *D. dianthicola* (Duprey et al 2016). Chaque espèce comprend plusieurs centaines de gènes spécifiques dont beaucoup sont regroupées en régions génomiques présentant souvent des signatures de transferts horizontaux. La comparaison d'isolats de ces 2 espèces a permis d'identifier des traits potentiellement impliqués dans l'émergence du pathogène *D. solani* et dans sa capacité d'installation au côté des autres espèces *D. dianthicola* et *Pectobacterium spp.* 

Des réunions (champs expérimentaux et stations expérimentales) ont été organisées afin de diffuser des informations sur les avancées du projet COMBICONTROL et sur l'état des connaissances sur les pathogènes *Dickeya* et *Pectobacterium* auprès des producteurs de la filière plants de pommes de terre.

#### Production scientifique et valorisation

- Alic et al. (2018) Genomic characterisation of the new *Dickeya* fangzhongdai species regrouping plant pathogens and environmental isolates. BMC Genomics.
- ▶ Cigna *et al.* (2017) A gapA PCR-sequencing assay for identifying the *Dickeya* and *Pectobacterium* potato pathogens. Plant Disease 101(7):1278-1282.





a) Parcelles d'essai des agents de biocontrôle contre la maladie de la jambe noire chez Solanum tuberosum, 2016. Crédit: FN3PT/RD3PT. b) Echantillonnage des populations Dickeya et Pectobacterium dans la Durance, 2018. Crédit: MA Barnv.

- Duprey et al. (2016) Transcriptional start site turnover in the evolution of bacterial paralogous genes: the pelE-pelD virulence genes in Dickeya FEBS J.283: 4192-4207.
- Faye et al. (2018) Draft genomes of "Pectobacterium peruviense" strains isolated from fresh water in France. Stand Genomic Sci. 2018: 13: 27.
- ▶ Khayi *et al.* (2016a) Transfer of the potato plant isolates of Pectobacterium wasabiae to *Pectobacterium parmentieri* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 66:5379-5383.
- ▶ Khayi *et al.* (2016b) Complete genome anatomy of the emerging potato pathogen *Dickeya solani* strain IPO2222T. Standards in Genomic Sciences 11:87.
- Khayi et al. (2018a) Complete chromosome sequences of the plant pathogens *Dickeya solani* RNS 08.23.3.1.A and *Dickeya dianthicola* RNS04.9. Genome Announcements 6:e00233-18.
- ▶ Khayi *et al.* (2018b) Complete chromosome and plasmid sequences of two plant pathogens, *Dickeya solani* strains Ds0432-1 et PPO9019. Genome Announcements 6 :e01447-17.
- Sarfraz et al. (2018) Pectobacterium punjabense sp. nov. Isolated from blackleg symptoms of potato plants in Pakistan. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.

Le projet COMBICONTROL est un projet de recherche collaborative public-privé (PRCE: Projet de Recherche Collaborative-Entreprises). Le projet a commencé en octobre 2015 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 463 764 €.

Partenaires: UMR 12BC (CNRS) UMR IEES (Université Paris-Sorbonne, UMR MAP(INSA), entreprise Semences Innovation Protection Recherche et Environnement, entreprise RD3PT.

#### COORDINATEUR

Denis Faure: denis.faure@i2bc.paris-saclay.fr

#### **FunFit**

Une approche basée sur les traits d'histoire de vie des champignons phytopathogènes pour faire le lien entre fitness individuelle et stratégies écologiques

#### — Rappel des objectifs

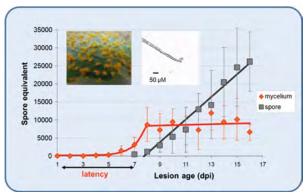
Les champignons constituent un groupe d'organismes extraordinairement divers. Malgré leur rôle écologique majeur, cette diversité a jusqu'à présent été un frein dans la conceptualisation de leurs stratégies de vie. L'objectif du projet FunFit a été d'appliquer les concepts développés en biologie et en écologie évolutive – associés à des outils originaux de modélisation - pour formaliser et mieux comprendre les stratégies de vie de ces organismes. Nous nous sommes focalisés sur trois questions écologiques majeures, liées à l'évolution du parasitisme, l'influence de la compétition sur la multiplication intra-hôte et la dispersion, et à la coexistence de complexes d'espèces parasitaires, ce qui a permis de décliner l'étude des stratégies de vie à différents niveaux d'organisation : individuel, populationnel ou interspécifique.

#### — Résultats du projet

Nous avons étroitement associé des travaux de modélisation en biologie évolutive et des expérimentations en conditions contrôlées ou des suivis de populations en milieu naturel, ceci grâce à un dialogue constant entre modélisateurs et biologistes. Les résultats théoriques issues de la modélisation ont été confrontés à diverses études empiriques réalisées chez trois espèces de champignons pathogènes forestiers choisies pour leur complémentarité : Cryphonectria parasitica responsable du chancre du châtaignier, Erysiphe alphitoides et E. quercicola responsables de l'oïdium du chêne et Melampsora larici-populina agent de la rouille du peuplier. Nous avons défini un cadre théorique pour l'étude de la dynamique d'infection intra-hôte au travers d'un modèle d'allocation des ressources qui a pu fournir des prédictions simples que nous avons validées empiriquement. D'autre part, nous avons établi que la compétition intra-hôte entraine un investissement plus fort dans la croissance mycélienne, au détriment de la sporulation du champignon. Enfin, nous avons montré qu'une différentiation temporelle de niche peut expliquer la coexistence d'un complexe d'espèces cryptiques ayant évolué le long d'un compromis entre capacité de multiplication pendant la période de végétation et survie hivernale.

#### - Production scientifique et valorisation

Un total de 25 articles scientifiques a été publié et cinq autres sont en cours de rédaction. L'ensemble du consortium a réalisé 61 communications nationales et internationales.



un champignon parasite biotrophe (rouille du peuplier) à l'aide d'inoculations monospores. Les lignes rouges et noires représentent la dynamique théorique de la croissance du mycélium et de la production cumulée de spores, de la clossaire du mycellain et du a production et de la production respectivement. Les losanges et les carrés représentent les quantités de mycélium et de spores mesurées par PCR quantitative. Crédit : INRAE Nancy.

Le projet FunFit est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en septembre 2013 et a duré 57 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 499 873 €.

Partenaires: UMR IAM (INRAE), UMR BIOGECO (INRAE), INRIA Sophia Antipolis.

#### COORDINATEUR

Pascal Frey: pascal.frey@inra.fr

#### **GANDALF**

# Génomique et adaptation des traits d'histoire de vie des champignons phytopathogènes impliqués dans les interactions avec la plante hôte

#### - Rappel des objectifs

GANDALF met en œuvre des approches de génomique des populations pour définir : i) Quelles sont les bases génomiques de l'adaptation des pathogènes à leur plante hôte (spécialisation, virulence, agressivité) ? ii) Quelle est la dynamique évolutive de ces facteurs dans les populations soumises aux pressions de sélection de la plante hôte ?

#### - Résultats du projet

- ▶ Obtention du premier génome de champignon (*Microbotryum*) assemblé complètement, y compris les centromères et du génome d'oomycete (mildiou de la vigne) après séquençage (Pacbio).
- Développement du package EggLib pour y intégrer de nouvelles analyses de génomique évolutive : http://egglib.sourceforge.net.
- Identification de gènes ou de régions du génome sous sélection chez plusieurs champignons phytopathogènes par génomique des populations. Cela comprend :
- des gènes candidats d'effecteurs chez Zymoseptoria tritici (Avr-Stb6) dont un validé fonctionnellement.
- des régions génomiques contrôlant des caractères quantitatifs d'agressivité de pathogènes vis-à-vis de résistances partielles de leur hôte
- Action de formation : École Chercheur INRAE « Concepts et outils de la génomique des populations à démographie complexe" en mars 2014

#### — Conclusions

L'utilisation de variétés résistantes aux champignons phytopathogènes constitue l'une des voies privilégiées pour réduire l'usage des pesticides. Si les gènes majeurs de résistance sont rares et souvent rapidement contournés, les gènes à effets quantitatifs sont plus largement répandues dans les populations naturelles et insuffisamment exploitées dans les systèmes agricoles. Il est nécessaire de comprendre la capacité d'adaptation des agents pathogènes afin d'évaluer les meilleures stratégies pour leur déploiement. Les résultats du projet GANDALF montrent qu'il est possible d'identifier des locus impliqués dans l'augmentation de l'agressivité des agents pathogènes face aux résistances partielles (nombreux facteurs impliqués). Ces connaissances fondamentales permettront à terme de définir des stratégies de gestion des résistances des plantes visant à freiner l'évolution de la pathogénie de leurs parasites, pour une exploitation durable de la biodiversité des plantes cultivées.

#### Production scientifique et valorisation

- Giraud T. *et al.* (2017). Microbial local adaptation: insights from natural populations, genomics and experimental evolution Mol Ecol 26: 1703–1710 (introduction to a co-edited special issue on the topic of the Gandalf project).
- Rouxel T. & Balesdent M. H. (2017). Life, death and rebirth of avirulence effectors in a fungal pathogen of Brassica crops, Leptosphaeria maculans. New Phytologist, 214(2), 526-532.
- Zhong Z. et al. (2017). A small secreted protein in Zymoseptoria tritici is responsible for avirulence on wheat cultivars carrying the Stb6 resistance gene. New Phytologist 214: 619-631.
- Arango Isaza R. et al. (2016). doi: 10.1371/journal.pgen.1005876.
- Badouin H. et al. (2017). Widespread selective sweeps throughout the genome of model plant pathogenic fungi and identification of effector candidates. Molecular Ecology 26: 2041–2062.



Crédit : INRAE, Elisabeth Fournier



Crédit : INRAE, Sylvie Richart-Cervera.

- Delmas, C. E. et al. (2017). Soft selective sweeps in fungicide resistance evolution: recurrent mutations without fitness costs in grapevine downy mildew. Molecular ecology, 26(7), 1936-1951.
- Dussert Y. et al. (2016).Draft Genome Sequence of Plasmopara viticola, the Grapevine Downy Mildew Pathogen. Genome announcements, 4(5), e00987-16.
- Feurtey A. et al. (2016). Strong phylogeographic costructure between the anther fungus and its white campion host. New Phytol 212(3):668-679. Highlighted by a comment by Laine and Croll.
- ▶ Badouin H. *et al.* (2015). Chaos of rearrangements in the mating-type chromosomes of the anther-smut fungus Microbotryum lychnidis-dioicae. Genetics 200:1275-1284, recommandé par FACULTY of 1000.
- ▶ De Gracia M. et al. (2015). doi: 10.1371/journal.pone.0122909.
- ► Gladieux P. *et al.* (2014). Invited Review: Fungal evolutionary genomics provide insights into the mechanisms of adaptive divergence in eukaryotes. Molecular Ecology 23: 753–773.
- Persoons A. et al. (2014). doi: 10.3389/fpls.2014.00450.
- Pernaci M. et al. (2014). doi: 10.3389/fpls.2014.00454

Le projet GANDALF est un projet de recherche fondamentale. Le projet a débuté le 1er janvier 2013 pour une durée totale de 60 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 794 078 €.

Partenaires: UMR Santé et Agroécologie du Vignoble (INRAE), UR Biologie et Gestion des Risques en Agriculture (INRAE), UMR Ecologie et Systématique (Université Paris sud), UMR Biologie et Génétique des Interactions Plante-Parasite (CIRAD), UMR LIPM (INRAE), UR URGI Unité de Recherche Génomique et Info (INRAE), UMR Institut de Recherche Horticulture et Semences (INRAE), UMR BIOGECO (INRAE), UMR Interaction Arbre-Microorganisme (INRAE).

#### COORDINATEUR

François Delmotte: francois.delmotte@inra.fr

#### **ODORSCAPE**

#### Effets du changement climatique sur les émissions de composés volatils par les plantes et leurs impacts sur l'olfaction de l'insecte

#### - Rappel des objectifs

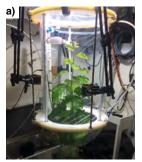
La végétation terrestre libère une grande diversité de composés organiques volatils qui forment des environnements odorants complexes et jouent un rôle majeur de signalisation dans les interactions entre organismes. Les insectes, notamment, extraient de ces paysages sensoriels (ou odorscapes) des signaux essentiels à leur reproduction. La localisation du partenaire sexuel ou celle des plantes hôtes reposent ainsi très largement sur la perception d'odeurs spécifiques perçues grâce à un système olfactif spécialisé. Il est maintenant largement admis que les récepteurs olfactifs qui détectent ces sémiochimiques sont sensibles à l'arrière-plan odorant. Face aux changements rapides de l'environnement dus à l'émission de gaz à effet de serre d'origine anthropique, les futurs paysages odorants des agro-écosystèmes vont dépendre très largement de la sensibilité des voies de production de Composés Volatiles par les plantes (VPCs) vis-à-vis des facteurs de changement global. Cependant, les impacts de ces modifications prévisibles des odorscapes sur l'insecte n'ont jamais été évalués en détail. Dans ce contexte, notre projet vise à évaluer quantitativement et qualitativement les effets des facteurs de changement global sur les voies métaboliques et les émissions de VPCs dans deux types d'agro-écosystèmes puis à analyser les effets de ces nouveaux environnements sensoriels sur la communication olfactive chez l'insecte phytophage au niveau des gènes olfactifs, du codage neuronal et du comportement d'orientation.

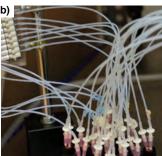
#### — Résultats du projet

Le paysage odorant de l'insecte est constitué de la partie du spectre des composés volatils émis par les plantes (volatilome) que ses récepteurs olfactifs lui permettent de détecter (olfactilome). Ainsi avons-nous identifié les composés volatils (CVP) émis par un ensemble végétatif type constitué d'une culture (maïs), de plantes pérennes (peuplier, chêne vert), et d'adventices (armoise) cultivées en conditions standard, puis en conditions modifiées (augmentation des taux de CO2, de l'ozone et de la température). L'espace olfactif du papillon Agrotis ipsilon a été déterminé en analysant les émissions naturelles de ces plantes par couplage chromatographie en phase gazeuse-électroantennographie. Pour évaluer les effets de l'odorscape sur l'olfaction du papillon nous avons mis au point des techniques quantitatives et qualitatives permettant de reproduire au laboratoire ces mélanges odorants. Une contribution importante du projet ODORSCAPE a donc été le développement d'outils innovants pour un monitoring in-vivo de l'activité physiologique des plantes en utilisant les signatures de CVPs comme indicateur non-destructif. Dans ce contexte, des différences de signature chimique ont été mises en évidence entre cultivars de maïs et conditions de cultures. La température modifie plus significativement les émissions que le CO2. Ce monitoring in-vivo du métabolome volatil pourra être utilisé en routine pour le phénotypage des plantes ou la surveillance et la gestion des cultures vis-à-vis de stress biotiques et abiotiques dans le contexte du changement climatique global.

#### Production scientifique et valorisation

▶ Renou M. et al. (2016). Communiquer dans un environnement olfactif bruité : comment les noctuelles reconnaissent la phéromone dans un arrière-plan odorant? 18e colloque Biologie de l'Insecte. Tours, France, June 27-29. Présentation orale.





ions volatiles d'un peuplier en cellule d'Ecotron. Crédit : Elodie Merlier, UPEC, b) Stimulateur olfactif multivoies mis au point pour mesurer les effets de l'environnement olfactif sur le papillon. Crédit : Michel Renou, INRA).

- ▶ Renou M. (2016). Codage du signal dans un environnement olfactif complexe et changeant. Réunion annuelle du GDR Olfaction. Lyon, 6-7 Octobre. Conférence invitée.
- Daussy J. et al. (2017). Screening of volatile emissions of a wide range of maize (Zea mays L.) genotypes: intraspecific variability and response to simulated biotic stress. JEF: Functional Ecology Conference, La Grande Motte, March 28-31. Poster.
- ▶ Daussy J. et al. (2017). L'effet du changement climatique sur les composés organiques volatils du maïs (Zea mays L.). 4es journées scientifiques du GDR Médiation chimique dans l'environnement - écologie chimique (MediatEC, GDR CNRS 3658), 2-4 novembre 2017. Présentation orale.
- Conchou L. et al. (2017). Olfactory perception in complex and changing odour landscapes. European Symposium for Insect Taste and Olfaction. Villasimius (Italie) 17-22 September. Présen-
- Daussy J. et al. (2017). Volatile Organic Compounds released by maize (Zea mays L.): intraspecific variability and impact of global change on emissions. Journées Scientifiques du LabEx CheMISyst – 4-5 décembre 2017. Présentation orale invitée.
- Daussy J. et al. (2018). Volatile Organic Compounds released by maize (Zea mays L.): impact of short-and long-term variations of global change factors on emissions. Gordon Research Conference "Plant Volatiles", February 4-9 2018, Lucca (Barga), Italy. Poster.
- Merlier E. et al. 2018 Physiological and ecological consequences of changes in volatile plant emissions induced by elevated atmospheric Ozone and CO2 concentrations. International Conference on "Ozone and Plant Ecosystems" (2nd Ozone and Plants Conference), 21-25 May, 2018, Florence (Italy). Poster.

Le projet ODROSCAPE est un projet de recherche fondamentale. Le projet a débuté en novembre 2015 et a duré 48 mois. ll a bénéficié d'une aide ANR de 685 056 €.

Partenaires: UMR IEES (INRAE), UMR CEFE Equipe Ecologie Fonctionnelle (CNRS), UMR CEREEP Ecotron Île de France (ENS).

#### COORDINATEUR

Michel Renou: michel.renou@inra.fr

#### **StrigoPath**

# Voies de signalisation des strigolactones (et/ou de dérivés) chez les plantes terrestres

#### - Rappel des objectifs

Les strigolactones (SL) constituent la classe d'hormones la plus récemment découverte pour leur rôle dans l'inhibition de la ramification. Ces composés très anciens étaient déjà connus pour leur rôle dans la rhizosphère, en particulier pour l'établissement de la symbiose mycorhizienne à arbuscules avec des champignons du sol. Un objectif majeur du projet StrigoPath était de mieux comprendre l'évolution des voies de signalisation des SL, notamment des mécanismes de perception de ces molécules très diverses et de comparer les voies de signalisation entre plantes vasculaires (le pois, *Pisum sativum*) et plantes non vasculaires (la mousse, *Physcomitrella patens*).

#### - Résultats du projet

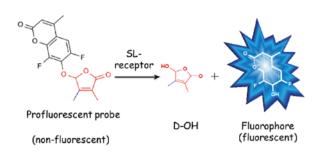
Un des résultats majeurs du projet est la découverte d'un mécanisme nouveau et original de perception d'une hormone grâce au développement de sondes profluorescentes. Nous avons démontré que le récepteur des SL des plantes vasculaires, une  $\alpha/\beta$ –hydrolase, génère lui-même par réaction enzymatique irréversible son propre ligand.

Des approches de transcriptomiques ont permis d'identifier et de comparer les gènes régulés par les SL chez une plante vasculaire et une plante non-vasculaire. De nouveaux mutants ont été obtenus chez le pois et la mousse dont l'étude future permettra de mieux comprendre les voies de signalisation et de transduction du signal SL. Ainsi, une diversification des homologues du récepteur des SL des plantes vasculaires est observée chez la mousse permettant de percevoir non seulement les SL mais potentiellement d'autres molécules impliquées dans les interactions entre plantes. Afin d'identifier les récepteurs des SL chez la mousse, des approches de transcriptomiques et de modélisation structurale ont été menées complétées par des approches de génétique avec l'obtention de mutants multiples de mousse par la technique CRISPR-Cas9.

Une méthode de quantification des principales SL de pois a été développée en utilisant des standards synthétisés dans le cadre du projet.

#### - Production scientifique et valorisation

- ▶ Lopez-obando M. *et al.* (2018). Physcomitrella patens MAX2 characterization suggests an ancient role for this F-box protein in photomorphogenesis rather than strigolactone signalling. New Phytol 219: 743–756.
- Ligerot Y. et al. (2017). The pea branching RMS2 gene encodes the PsAFB4/5 auxin receptor and is involved in an auxin-strigolactone regulation loop. PLoS Genet 13:e1007089.
- ▶ Boutet-Mercey S. et al. (2017). Validated Method for Strigolactone Quantification by Ultra High-Performance Liquid Chromatography Electrospray Ionisation Tandem Mass Spectrometry Using Novel Deuterium Labelled Standards. Phytochemical Analysis 29:59-68.
- De Saint Germain A. *et al.* (2016). An histidine covalent receptor and butenolide complex mediates strigolactone perception. Nature Chem Biol 12:787-94.
- Kameoka H. et al. (2016). Phloem Transport of the Receptor DWARF14 Protein Is Required for Full Function of Strigolactones. Plant Physiol 172: 1844–1852.



Principe des sondes profluorescentes qui ont permis de caractériser le mécanisme de réception des strigolactones. Le récepteur appartient à la famille des a/β-hydrolases et a conservé une activité enzymatique. La fluorescence n'est détectée qu'après l'action du récepteur qui hydrolyse la sonde et permet de libérer le fluorophore.

- ▶ Lopez-Obando M. *et al.* (2016). Structural modelling and transcriptional responses highlight a clade of PpKAI2-LIKE genes as candidate receptors for strigolactones in Physcomitrella patens. Planta, 243:1441-53.
- Lopez-Obando M. *et al.* (2016). Simple and Efficient Targeting of Multiple Genes Through CRISPR-Cas9 in Physcomitrella patens. G3 (Bethesda), 6:3647-3653.
- Catherine Rameau *et al.* (2015). Multiple pathways regulate shoot branching. Front Plant Sci. 13;5:741.
- Lopez-Obando M. et al. (2015). Strigolactone biosynthesis and signaling in plant development. Development 142: 3615–9.
- Boyer F.D. et al. (2014). New strigolactone analogs as plant hormones with low activities in the rhizosphere. Mol Plant 7: 675-690
- ▶ Hoffmann B. *et al.* (2014). Strigolactones inhibit caulonema elongation and cell division in the moss Physcomitrella patens. PLoS One 9: e99206.
- ► Chen V.X. *et al.* (2013). New synthesis of A-ring aromatic strigolactone analogues and their evaluation as plant hormones in pea (Pisum sativum). Chemistry 19: 4849-4857.

Le projet StrigoPath est un projet de recherche fondamentale. Le projet a débuté en octobre 2012 et a duré 54 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 484 000 €.

Partenaires: UMR Institut Jean-Pierre Bourgin (INRAE), Institut de Chimie des Substances Naturelles (CNRS), Service de Chimie Bio-organique et de Marquage (CEA), UMR Unité de recherche en génomique végétale (INRAE).

#### COORDINATRICE

Catherine Rameau: catherine.rameau@inra.fr



#### **AdaptInWild**

Identifier la variation adaptative dans les espèces sauvages apparentées à deux céréales cultivées, le maïs et le mil

#### - Rappel des objectifs

AdaptInWild se proposait d'explorer le réservoir allélique de deux espèces sauvages apparentées au maïs et au mil cultivé, et d'évaluer son rôle potentiel pour les futurs efforts d'amélioration. Le but du projet était d'apporter des connaissances sur les bases génétiques et épigénétiques de l'adaptation. Nous avons collecté un matériel original le long de deux gradients d'altitude et d'humidité respectivement pour le maïs « sauvage » (téosinte) et le mil « sauvage ». Ces gradients miment une variation climatique continue. Ils ont servi de base à une approche intégrative permettant d'étudier les différentes facettes de l'adaptation, de la recherche de traces de sélection dans les génomes jusqu'à l'étude de leur effet sur la variation de caractères phénotypiques mesurés en conditions naturelles.

#### - Résultats du projet

Les résultats de ce projet ont permis d'identifier des gènes associés à l'adaptation au stress biotique et abiotique chez le mil. Cette adaptation intra-spécifique n'est pas significativement associée à un enrichissement en allèles cis-régulés. Chez les téosintes, les interactions plante-sol ont eu un rôle majeur dans l'adaptation locale. Plusieurs exemples de convergence génétique entre gradients (même haplotype sélectionné) ont été observés. Nous avons pu identifier des marques épigénétiques de méthylation des histones (H3K27m3) spécifiques de deux sous-espèces de téosintes. Ces marques sont associées à des expressions différentielles de gènes entres sous-espèces. Nous avons pu aussi démontrer que les régions génomiques impliquées dans les adaptations anciennes sont importantes dans la variation actuelle de caractères agronomiques. Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes sur l'adaptation des formes cultivées aux variations environnementales.

#### - Production scientifique et valorisation

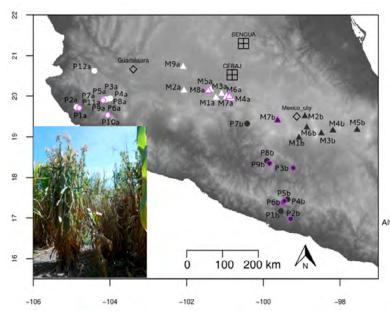
- Fustier M-A., et al. (2019). Common gardens in teosintes reveal the establishment of a syndrome of adaptation to altitude. Plos Genetics. 15(12):e1008512.
- Fustier M-A. *et al.* (2017). Signatures of local adaptation in lowland and highland teosintes from whole genome sequencing of pooled samples. *Molecular Ecology.* 26(10): e1006666.
- ▶ Rhoné B. *et al.* (2017). No major cis-regulation enrichment associated with intra-specific selection and variation in Pennisetum glaucum. *Genome Biol Evol* 9 (2) : 388-397.
- Ousseini I.S. *et al.* (2017). Myosin XI is associated with fitness and adaptation to aridity in wild pearl millet. *Heredity*. volume 119, pp 88–94.
- ▶ Berthouly-Salazar C. *et al.* (2016). Genome scan reveals selection acting on genes linked to stress response in wild pearl millet. *Molecular Ecology.* 25(21): 5500-5512.
- Martínez-Ainsworth N.E. et Tenaillon M.I. (2016). Superheroes and masterminds of plant domestication. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences Biologies*. 339(7-8):268.
- ▶ Vitte C. *et al.* (2014). The bright side of transposons in crop evolution. *Briefings in Functional Genomics.* 13(4): 276-295.
- Muñoz Diez C. *et al.* (2013). Genome size variation in wild and cultivated maize along altitudinal gradients. *New Phytologist.* 199: 264-276.

Le projet AdaptInWild est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en octobre 2012 et a duré 56 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 514 043 €.

Partenaires: UMR GQE-Le Moulon (CNRS, INRAE), UMR DIADE (IRD), ISRA - Dakar (Sénégal), UAM, Niamey, Niger, Universidad Nacional Autónoma de México (Mexique).

#### COORDINATRICE

Maud Tenaillon: maud.tenaillon@inra.fr



- 5000 - 4000 - 3000 - 2000 - 1000 0

> Les populations de mils « sauvages » collectées le long de deux gradients d'aridité, au Mali et Niger, sont indiquées sur la carte avec une photo des plantes in situ. Crédit photo : INRA.

#### **ChickStress**

#### Mécanismes d'adaptation à la chaleur et à un aliment sub-optimal chez la poule pondeuse

#### Rappel des objectifs

Les œufs et la viande de volailles sont des sources majeures de protéines pour l'alimentation humaine dans le monde entier. Dans le contexte de l'augmentation de la population humaine, améliorer les capacités d'adaptation des poules aux variations climatiques et de ressources alimentaires est un enjeu majeur, aussi bien en régions chaudes (Asie, Afrique) que dans nos pays où le long cycle de production de la poule pondeuse accroit ses risques d'être exposée à de telles variations. L'objectif du projet ChickStress est de fournir un ensemble de connaissances fondamentales sur les mécanismes d'adaptation de la poule pondeuse à ces deux facteurs de stress abiotiques en combinant phénotypages et approches de génomique chez quatre génotypes très contrastés en termes de performances et de thermo-résistance.

#### — Résultats du projet

Concernant l'exposition à la chaleur, nous confirmons des capacités de thermo-résistance très différentes entre génotypes et montrons des réponses tissu-spécifiques et différentes d'un génotype à l'autre. Les gènes ne révèlent pas de mécanismes de réponse communs. Concernant le stresseur alimentaire (aliment à basse énergie), nous observons une adaptation des animaux à travers l'absence de diminution des performances de ponte, probablement liée à une augmentation de la consommation alimentaire et à une mobilisation de la masse graisseuse. L'analyse de 4 tissus (sang, hypothalamus, foie et tissu adipeux) montre clairement un impact du régime sur le sang et l'hypothalamus, dans lequel se dégage notamment une voie en lien avec la régulation de la prise alimentaire. En revanche, aucun impact n'a été observé sur le foie et le tissu adipeux qui ont pourtant des rôles majeurs dans l'homéostasie énergétique. Des processus biologiques communs sembleraient être impactés par les deux facteurs de stress dans l'hypothalamus. Pour finir, la technologie

du RNA-seq, qui permet de mesurer l'expression de gènes nouveaux par séquençage, a permis d'identifier de nouveaux gènes régulateurs ne codant aucune protéine qui viennent allonger la liste des gènes régulateurs, jusque-là majoritairement composée de facteurs de transcription. Nous avons ainsi identifié plus de 1 000 gènes « longs non codants » impactés par l'un ou l'autre des deux facteurs de stress abiotiques.

#### Production scientifique et valorisation

- Muret K. et al. (2017). Long noncoding RNA repertoire in chicken liver and adipose tissue. Genetics Selection Evolution. Jan 10;49(1):6.
- ▶ Brenet et al. (2017). Phenotype and multi-tissue transcriptome response to diet changes in laying hens., ISAG Dublin juillet 2017
- ▶ Jehl et al. (2017) Liver and whole blood transcriptome response to chronic heat exposure in laying hens., ISAG Dublin juillet 2017
- Tholance et al. (2018). Phenotype response to chronic heat exposure in laying hens using multiple genotypes. EPC Dubrovnik
- Jehl et al. (2018). Long noncoding RNA are involved in response to abiotic stress in laying hens. EAAP Dubrovnik août 2018.

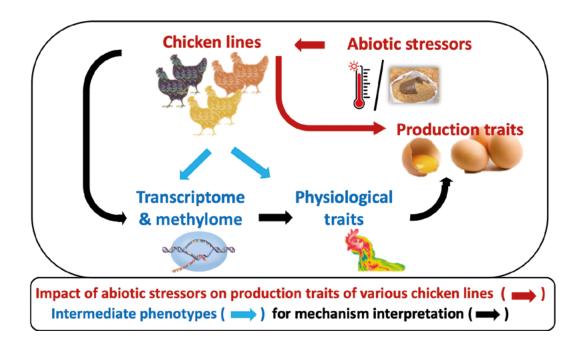
Le projet ChickStress est un projet de recherche collaborative public-privé (PRCE : Projet de Recherche Collaborative-Entreprises). Le projet a débuté le 1er avril 2014 pour une durée de 5 ans et s'est achevé le 31 mars 2019. Il a bénéficié d'**une aide** ANR de 464 560 €.

Partenaires: UMR PEGASE (INRAE), UMR GABI (INRAE), UMR GenPhySe (INRAE), entreprise Novogen.

#### COORDINATRICE

Sandrine Lagarrique:

sandrine.lagarrigue@agrocampus-ouest.fr



#### **DeCoD**

Détection de réseaux de gènes Coadaptés par analyse de la Diversité génétique à l'échelle du génome : application à la légumineuse modèle Medicago truncatula

#### - Rappel des objectifs

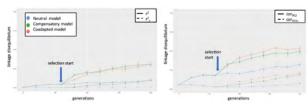
Le changement climatique menace la sécurité alimentaire à l'échelle mondiale. Une stratégie reconnue est de développer des ressources génétiques capables de faire face aux conditions locales abiotiques et biotiques. La sélection assistée par marqueurs (SAM) permet d'intégrer des gènes de l'adaptation ou des Quantitative Trait Loci (QTL) dans des variétés élites.

La cartographie de QTL identifie les bases génétiques des caractères complexes. Cette stratégie est coûteuse financièrement et en temps (production de populations ségrégeant pour le caractère d'intérêt), elle génère des cartes imprécises et limite la diversité génétique des lignées parentales du croisement. Les coûts décroissants du séquençage des génomes permet d'identifier des variants génétiques cibles de la sélection ou bien associés à des caractéristiques avantageuses (résistance aux stress, rendement...).

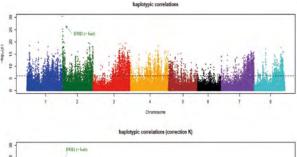
Medicago truncatula est une légumineuse modèle pour l'étude des interactions entre les plantes et les microorganismes (Bonhomme et al. 2014, New Phytol; Bonhomme et al. 2015, Mol Biol Evol). La cartographie par génétique d'association est puissante, très résolutive et permet de tester d'éventuelles interactions entre gènes causaux, bien qu'au prix d'un temps de calcul restrictif, mais le phénotypage d'un grand nombre d'individus reste une lourde tâche et les résultats sont très dépendants du caractère mesuré et de l'environnement. Les approches de génomique des populations focalisent seulement sur l'analyse des polymorphismes moléculaires, mais détectent difficilement les réseaux de gènes sans l'apport d'informations biologiques supplémentaires.

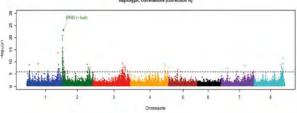
#### — Résultats du projet

Afin d'accélérer l'amélioration génétique notamment des légumineuses cultivées (soja, pois), les programmes de sélection devront plutôt cibler les réseaux de gènes conférant une adaptation locale. Le projet DeCoD vise (i) à développer des approches de génétique des populations innovantes pour identifier des réseaux de gènes « coadaptés », en exploitant la signature génétique de la sélection épistatique entre les gènes d'un même réseau biologique, (ii) à appliquer ces méthodes sur des données massives de polymorphismes moléculaires (22 millions de Single Nucleotide Polymorphisms - SNPs) afin de valider, compléter et identifier de nouveaux réseaux géniques impliqués dans l'adaptation de M. truncatula à son environnement, et enfin (iii) à valider fonctionnellement le rôle de certains gènes et réseaux de gènes candidats dans la réponse adaptative de M. truncatula aux microorganismes racinaires pathogènes et symbiotiques, puis identifier les variants génétiques orthologues de ces réseaux chez les légumineuses cultivées. La perspective immédiate de ce projet est le transfert des connaissances pour accélérer l'amélioration génétique des légumineuses cultivées par des techniques de type SAM. Les méthodes développées pourront être appliquées aux données de SNPs issues des projets de séquençage massif en cours chez les légumineuses cultivées, et plus largement chez les espèces domestiquées.



Simulations of epistatic selection models and their effect on linkage disequilibrium in a population under a self-mating scheme.





Genome-wide bait approach to detect coadaptation between a candidate gene and other genomic regions in *M. truncatula* (example using the DMI1 gene involved in root symbiosis signaling). Crédit: M. Bonhomme.

#### Production scientifique et valorisation

- ▶ Bonhomme M.et Jacquet C. (2019). Genome-Wide Association Mapping and population genomic features in *Medicago truncatula*. "The Model Legume *Medicago truncatula*." Frans J. de Bruijn (Editor), [Book Chapter].
- ▶ Bonhomme M. *et al.* (2019) A local score approach improves GWAS resolution and detects minor QTL: application to *Medicago truncatula* quantitative disease resistance to multiple Aphanomyces euteiches isolates. Heredity 123, pages 517–531.
- ▶ Bonhomme M. Detecting genomic signature of gene (co)adaptation in *Medicago truncatula* using SNP data. «Agrosym » network meeting, 29-31 May 2018, Dijon, France [Oral Communication].
- Boyrie L, Bonhomme M. Detecting signatures of epistatic selection in *Medicago truncatula* genes using SNP data. « Plant Adapt 2018 » Conference, 12-14 September 2018, Banyuls, France [Poster].

Le projet DeCoD est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en novembre 2016 et dure 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 224 889 €.

Partenaire: UMR LRSV (Université Paul Sabatier).

#### COORDINATEUR

Maxime Bonhomme: bonhomme@lrsv.ups-tlse.fr

#### **FLAG**

Génétique écologique des arbres forestiers : interactions entre flux de gènes et variabilité environnementale dans la détermination de l'adaptation locale et du potentiel d'adaptation

#### — Rappel des objectifs

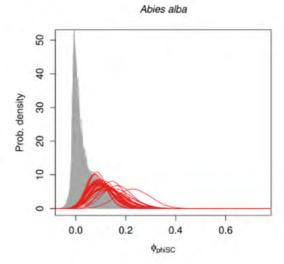
Le projet FLAG visait à la détection et à l'analyse des patrons génomiques de l'adaptation microgéographique chez les arbres forestiers. L'adaptation microgéographique est un phénomène par lequel des populations de plantes s'adaptent à des variations de conditions environnementales très localisées, souvent à l'intérieur d'une surface occupée par des peuplements continus et en présence de forts flux de gènes entre environnements. Ce phénomène a été observé préalablement chez des plantes annuelles, mais jamais chez des organismes longévifs ; de plus, l'architecture génétique et l'intensité de la sélection associées à ce mécanisme d'adaptation sont inconnus.

#### - Résultats du projet

Les analyses ont montré une action diffuse de la sélection au niveau du génome, qui implique de quelques dizaines à quelques centaines de locus. La pression de sélection sur ces locus est forte, au point de provoquer une forte divergence entre sousgroupes d'arbres d'un même peuplement, malgré le fort taux de migration observé entre sous-groupes. Ces résultats sont cohérents avec des prédictions théoriques jamais vérifiées jusqu'ici, qui par ailleurs montrent que seulement une sélection très forte peut entraîner de tels patrons de divergence génétique. Le projet a également produit des prédictions théoriques qui mettent en avant les biais méthodologiques associés à la détection de signatures de sélection sur les caractères quantitatifs dans le cas de caractères très polygéniques (et donc en présence de sélection multi-locus).

La découverte de processus sélectifs d'une telle intensité à des échelles géographiques si courtes suggère que la diversité génétique intra-populationnelle observée dans de nombreuses populations sauvages de plantes pourrait être en partie expliquée par des processus de maintien de la diversité génétique par des processus adaptatifs. Cette portion de la diversité génétique serait donc d'une grande importance dans la détermination du potentiel d'adaptation des espèces, surtout dans un contexte de changement climatique : la présence de plusieurs « optimum » d'adaptation au sein de chaque peuplement pourrait servir de base à une réponse rapide, basée sur la diversité déjà présence, des peuplements naturels aux défis imposés par un changement environnemental rapide.

D'un point de vue plus général, ces résultats suggèrent que l'identification de locus génétiques associés à des processus d'adaptation microgéographiques pourrait être une piste de recherche intéressante dans le choix de germoplasme sauvage à introgresser dans leurs contreparties cultivées. Les débouchées de FLAG portent donc sur des approches agroécologiques à l'amélioration des plantes cultivées, en plus de fournir des bases pour une gestion raisonnée et adaptative des peuplements sau-



Patrons de divergence extrêmes au niveau microgéographique pour des locus génétiques chez le sapin pectiné dans les Alpes du Sud. Crédit : Ivan Scotti, INRA-URFM.

#### Production scientifique et valorisation

Le projet a produit jusqu'à présent cinq articles dans des revues internationales à comité de lecture, un manuscrit déposé sur BioArxiv est en cours de soumission, un article en préparation, et dix communications orales ou par poster dans des conférences internationales.

Le projet FLAG est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en novembre 2012 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 560 000 €.

Partenaires: UMR EcoFoG (INRAE), UMR AGPF (INRAE), UMR BioGeCo (INRAE), UMR URFM (INRAE), INIA-CIFOR Center of Forest Research (Espagne), Instituto de Ciências Biológicas (Universidade Federal de Goiás - Brésil), IGV Plant Genetics Institute (CNR-Italie).

#### COORDINATEUR

Ivan Scotti: ivan.scotti@inra.fr

# HerbiFun Les champignons pathogènes des plantes, une source de nouveaux herbicides

#### - Rappel des objectifs

De nombreux produits naturels bioactifs sont des métabolites secondaires (MS) produits par les champignons. Certains, tels que la pénicilline ou la céphalosporine, sont précieux dans le domaine médical. D'autres, produits par les champignons pathogènes de plantes, sont phytotoxiques et pourraient être la source d'herbicides avec de nouveaux modes d'actions. Optimiser la valorisation de cette bio-ressource fongique présente donc un intérêt majeur pour l'agriculture. Néanmoins, les MS phytotoxiques sont en général uniquement produits par les champignons au cours de l'infection de leurs plantes hôtes, ce qui constitue un frein à leur identification et étude. L'objectif du projet HerbiFun est d'activer par des approches génétiques et épigénétiques la production de MS fongiques en conditions de culture in vitro afin d'identifier de nouveaux produits naturels à activité herbicide. Le projet est composé de quatre actions chacune prise en charge par l'un des partenaires : (1) Annoter les gènes de biosynthèse et de régulation du métabolisme secondaire des génomes fongiques (I2BC), (2) activer la production de MS chez quatre espèces phytopathogènes dans des conditions de cultures in vitro en modulant des régulateurs de la transcription et de la structure chromatinienne (BIOGER), (3) identifier les structures chimiques des MS produits (ICSN) et (4) tester leur phytotoxicité sur un panel de plantes cultivées et d'adventices (De Sangosse). A plus long terme, le projet HerbiFun devrait permettre de développer de nouveaux herbicides d'origine naturelle. Il a été labellisé par les pôles de compétitivité Végépolys, Céréales Vallée et Agri Sud-Ouest Innovation.



Crédit : De Sangosse

Le projet HerbiFun est un projet de recherche collaborative public-privé (PRCE: Projet de Recherche Collaborative-Entreprises). Le projet a débuté en décembre 2016 pour une durée totale de 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 365 176 €.

Partenaires: UMR BIOGER (INRAE), UMR I2BC (CNRS), UMR ICSN (CNRS), entreprise De Sangosse.

#### COORDINATRICE

Muriel Viaud: muriel.viaud@inra.fr

#### MeCC

Mécanismes de l'adaptation au Changement Climatique : comment plasticité phénotypique, micro-évolution et migration affecteront-elles la phénologie des arbres forestiers?

#### — Rappel des objectifs

Des mécanismes peuvent faciliter l'adaptation au changement rapide du climat : la migration des espèces pour traquer les conditions favorables, la plasticité phénotypique des individus pour ajuster dans une certaine mesure leurs performances, la sélection naturelle dans les populations pour une adaptation génétique sur le long terme. Néanmoins, les projections des impacts du changement climatique sur la biodiversité incorporent très rarement ne serait-ce qu'un de ces mécanismes d'adaptation.

Nous avons étudié l'interaction entre ces trois mécanismes : (1) évalué la valeur adaptative de la plasticité phénotypique dans les climats actuels et futurs, (2) cherché à comprendre comment l'évolution génétique, en interaction avec la plasticité et les échanges génétiques, façonnait les différences entre populations au sein d'une espèce, (3) utilisé notre compréhension accrue de ces variations afin de mieux prédire la distribution future des espèces.

La date de débourrement des bourgeons, chez le hêtre, le chêne et le sapin (essences d'intérêt majeur en France) est un trait clé de l'adaptation des arbres à leur environnement. Nous avons cherché à incorporer différents mécanismes d'adaptation dans les prévisions des impacts du changement climatique sur ces trois espèces. Nous avons combiné des modèles théoriques, des modèles de fonctionnement de l'arbre et des observations de terrain pour prévoir leurs capacités d'adaptation au changement climatique dans un futur proche. Ces modèles ont été confrontés aux données récoltées sur la date de débourrement et son déterminisme génétique le long de différents gradients d'altitude dans les Pyrénées et sur le mont Ventoux où les espèces sont suivies depuis plusieurs années.

#### — Résultats du projet

Nous avons montré que la date optimale de débourrement augmentait avec l'altitude chez les trois espèces. La plasticité phénotypique permet d'atteindre cet optimum chez le sapin, mais pas chez le hêtre et le chêne, où nous prédisons et observons in natura une sélection pour une date plus précoce. Cette sélection pourrait s'intensifier ou se relâcher dans le futur selon les régions considérées. Nos modèles révèlent d'autres sources d'incertitude : les réponses évolutives futures pourraient être ralenties par le lent cycle de vie des arbres ; ou accélérées par les croisements préférentiels entre individus précoces, ainsi que par la dispersion à longue distance du pollen.

Ces incertitudes montrent la nécessité d'intégrer dans les modèles prédictifs à la fois les échanges génétiques à longue distance et la longue durée de vie des arbres. Nos résultats mettent en garde contre des pratiques de gestion qui ignoreraient les capacités d'adaptation des arbres au climat futur ou qui les surestimeraient. Le fait que nos prédictions dépendent fortement de la localité et de l'espèce plaide pour la production de projections à haute résolution spatiale et tenant compte des spécificités de chaque espèce. À la suite de notre projet, des outils d'aide à la gestion adaptative de parcelles forestières sont en cours de développement.

#### - Production scientifique et valorisation

- Aguilée R. et al. (2016). Pollen dispersal slows geographical range shift and accelerates ecological niche shift under climate change. Proceedings of the National Academy of Science USA 113: E5741-E5748.
- Anciaux Y. et al. (2018). Evolutionary rescue over a fitness landscape. Genetics 209: 265-279.
- ▶ Bonnefon O. et al. 2014. The spatio-temoral dynamics of neutral genetic diversity. Ecological Complexity 20: 282-292.
- Cotto O. et al. (2019). Maladaptive shifts in life history in a changing environment. The American Naturalist, sous presse.
- Dantec C.F. et al. (2015). Escape of spring frost and disease through phenological variations in oak populations along elevation gradients. Journal of Ecology 103: 1044-1056.
- Duputié A. et al. (2015). Phenological plasticity will not help all species adapt to climate change. Global Change Biology 21: 3062-3073.

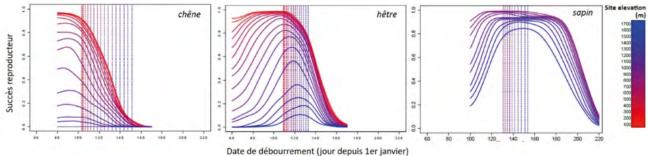
Le projet MeCC est un projet de recherche fondamentale. Le projet a débuté en janvier 2014 et a duré cinq ans. Il a bénéficié d'une aide ANR de 383 062 €.

Partenaires : UMR CEFE (CNRS) - UMR ISEM (Université de Montpellier), UMR BIOGECO (INRAE), UR Ecologie des forêts méditerranéennes (INRAE), UR Biostatistique et processus spatiaux

#### COORDINATRICES

Ophélie Ronce : ophelie.ronce@umontpellier.fr Isabelle Chuine: isabelle.chuine@cefe.cnrs.fr

Prédiction des relations entre date de débourrement et succès reproducteur chez le hêtre (Fagus sylvatica), le chêne (Quercus petraea) et le sapin (Abies alba) dans la vallée des Gave par le modèle PHENOFIT (Gaüzere et al. in prep). Chaque courbe représente le succès de reproduction moyen d'une population à une altitude donnée en fonction de sa date de débourrement moyenne. Chaque trait pointillé vertical représente la date de débourrement moyenne de la population prédite selon sa réponse actuelle à la température. Le succès de reproduction diminue avec l'altitude chez les trois espèces, et il existe une date optimale de débourrement qui maximise ce succès, qui tend à être plus tardive à haute altitude. Le succès de reproduction du sapin, espèce à feuillage persistant, apparaît beaucoup moins contraint par la date de débourrement que le chêne et le hêtre



# miPEPiTO Utilisation de miPEPs pour contrôler l'Interaction Tournesol – Orobanche

#### - Rappel des objectifs

L'objectif global du programme de recherche miPEPiTO est de développer des miPEPs, des petits peptides régulateurs qui activent spécifiquement la transcription de leur transcrit primaire et par conséquent la synthèse du miARN mature correspondant, dans le contexte de l'interaction plante – plante parasite, tournesol – *O. cumana*. Nos résultats précédents ont montré que le développement des plantes peut être spécifiquement modifié par des traitements avec des miPEP synthétiques exogènes stimulant la synthèse de leurs miARN correspondants. Nous émettons l'hypothèse que l'utilisation de ces miPEPs apportera de nouvelles connaissances sur les déterminismes moléculaires de l'interaction parasite tournesol – *O. cumana* mais aussi une nouvelle stratégie pour contrôler cette interaction en utilisant une classe nouvellement découverte de peptides végétaux naturels. Les objectifs de ce projet sont :

- ▶ d'étudier les rôles des miARN dans la biologie du pathosystème O. cumana - tournesol, en utilisant des traitements exogènes de miPEPs de tournesol et/ou O. cumana;
- de tester l'hypothèse que certains miPEPs identifiés peuvent affecter négativement ce pathosystème en diminuant la croissance et l'infection de l'orobanche ou en améliorant la résistance au tournesol.



Le projet sera composé de deux tâches principales :

- ▶ Tâche 1 : identifier les miPEPs d'O. cumana potentiellement impliqués dans la régulation de la germination des graines et la formation de l'haustorium d'O. cumana (données RNA-seq et RACE-PCR), identifier les miPEPs de tournesol impliqués dans la régulation de la défense du tournesol (données RNA-seq), produire les peptides candidats synthétiques correspondants et évaluer l'activité des miPEPs synthétiques d'O. cumana sur la germination des graines et la différenciation de l'haustorium (en utilisant des tests in vitro spécifiques et originaux).
- ▶ Tâche 2 : sélectionner les candidats miPEP synthétiques d'*O. cumana* et de tournesol et évaluer leur capacité à affecter négativement le parasitisme soit en inhibant la croissance du parasite et le processus infectieux, soit en améliorant la résistance de tournesol (en réalisant des test *in vivo* de cultures en pot), et définir, à la lumière des résultats obtenus, des miPEPs capables de contrôler deux autres interactions plante parasite − plante : *Phelipanche ramosa* colza et *Striga hermonthica* maïs. Le résultat attendu de la Tâche 1 est d'accroître nos connaissances sur les mécanismes moléculaires clés d'une interaction complexe parasitaire en identifiant les gènes importants d'*O. cumana* et du tournesol qui sont impliqués dans ce parasitisme.

Ceux de la Tâche 2, qui seront exploités par une entreprise privée, sont de fournir une nouvelle méthode phytosanitaire de contrôle du parasitisme de l'orobanche (et probablement de striga) par des substances naturelles spécifiques et biodégradables



Orobanche cumana sur tournesol en Vendée. Crédit : LBPV

Le projet miPEPITO est un projet de recherche collaborative public-privé (PRCE: Projet de Recherche Collaborative-Entreprises). Le projet a débuté en décembre 2016 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 499 101 €.

Partenaires: EA LBPV (Université de Nantes), UMR LRSV (Université Paul Sabatier-CNRS), UMR LIPM (CNRS-INRA), entreprise MicroPEP Technologies (Toulouse).

#### COORDINATEUR

Philippe Delavault: philippe.delavault@univ-nantes.fr

#### **PHEROTOX**

#### Perception de la phéromone dans un environnement contaminé en insecticides : info-perturbation ou adaptation?

#### — Rappel des objectifs

Un effet néfaste sur les insectes pollinisateurs des insecticides néonicotinoïdes est bien connu, mais beaucoup moins les effets de faibles doses sur les insectes ravageurs. Dans ce projet, nous avons étudié les effets de l'exposition à des faibles doses d'un insecticide sur le système olfactif des papillons de nuit ravageurs des cultures, du comportement jusqu'au niveau neurophysiolo-

#### — Résultats du projet

Nous avons trouvé un effet inattendu positif d'une faible dose d'un insecticide sur le comportement d'orientation vers la phéromone sexuelle et la sensibilité de neurones olfactifs centraux chez les papillons de nuit dont les larves sont des ravageurs des cultures. Cet effet est de plus renforcé chez des papillons expérimentés, c'est-à-dire ayant déjà senti la phéromone. Ceci montre d'une part qu'une faible dose d'un insecticide peut favoriser la reproduction d'un insecte ravageur et d'autre part que cette faible dose peut agir sur la mémoire olfactive et permettre ainsi à l'insecte de « se souvenir » encore mieux de l'odeur sexuelle déià percue.

#### - Production scientifique et valorisation

International à comité de lecture :

- Rabhi K. et al. (2014) Unexpected effects of low doses of a neonicotinoid insecticide on behavioral responses to sex pheromone in a pest insect. PLoS ONE 9, e114411.
- ▶ Rabhi K. et al. (2016) Low doses of a neonicotinoid insecticide modify pheromone response thresholds of central but not peripheral olfactory neurons in a pest insect. Proc R Soc London B
- Abrieux A. et al. (2016) An insecticide further enhances experience-dependent increased behavioural responses to sex pheromone in a pest insect. PLoS ONE 11, e0167469-15.

- Lalouette L. et al. (2016) Unexpected effects of sublethal doses of insecticide on the peripheral olfactory response and sexual behavior in a pest insect. Environ Sci Pollut Res Int 23(4):3073-85. doi: 10.1007/s11356-015-5923-3.
- Meslin C. et al. (2020 soumis) Sublethal exposure effects of the neonicotinoid clothianidin strongly modify the brain transcriptome and proteome in the male moth Agrotis ipsilon. Pestic Biochem Physiol. submitted.

#### Articles de vulgarisation :

- ▶ Gadenne C. (2015) Une goutte d'insecticide et la reproduction des ravageurs. Newsletter INRA Pays de la Loire
- Anton S. (2016) Un peu d'insecticide stimule l'activité cérébrale d'un insecte ravageur. Newsletter INRA Pays de la Loire
- Gadenne C. (2017) Une faible dose d'insecticide renforce le souvenir olfactif d'un ravageur. Newsletter INRA Pays de la Loire

Quatre communications et 2 posters dans 4 congrès internationaux, 3 congrès nationaux et présentations dans des Universités et Institutions de recherche européennes.

Dix communications au colloque « PHEROTOX » à Angers en janvier 2016 organisé conjointement avec Végépolys.

Le projet PHEROTOX est un projet de recherche fondamentale. Le projet a débuté en septembre 2012 pour une durée de 54 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 428 589 €.

Partenaires : UPRES Récepteurs et Canaux Ioniques Membranaires (INRAE), UMR iEES Paris (Université Pierre et Marie Curie).

#### COORDINATRICE

Sylvia Anton: sylvia.anton@inra.fr



Effets d'insecticides sur la communication olfactive des papillons de nuit. Crédit : Kaouther Rabhi

#### **PRAISE**

## Amélioration génétique des PRAIries SEmées face aux aléas climatiques : valorisation de la diversité

#### - Rappel des objectifs

Alors que la diversité est un paramètre important des capacités de résilience des systèmes, la diversité présente au sein des cultures est relativement réduite. Promouvoir la diversité génétique et spécifique des cultures permettrait de faire face aux aléas climatiques, telle est l'hypothèse de travail du projet PRAISE. L'objectif de PRAISE est de poser les bases génétiques et écologiques de l'amélioration des espèces destinées à une utilisation en mélange en s'appuyant sur l'étude des prairies devant faire face aux aléas climatiques. Plus spécifiquement, il s'agit d'identifier les conditions génétiques et écologiques qui favorisent une production importante et stable des prairies multispécifiques au cours du temps.

#### - Résultats du projet

Les résultats de nos expérimentations (fig1.) confortent la plus-value de la diversité spécifique sur la production de biomasse des communautés prairiales, mais ils mettent aussi en évidence, ce qui est encore peu démontré, un effet de la diversité génétique sur cette production, en particulier sur sa stabilité, sa réponse à la contrainte hydrique, ainsi que sur l'abondance de chacune des espèces composant la communauté. Un autre de nos résultats clés est l'observation à l'échelle interspécifique d'une différenciation de niche des espèces au cours du temps lorsque l'on s'intéresse à des traits impliqués dans la stratégie d'acquisition de la ressource lumineuse. De plus, nous avons pu mettre en évidence un décalage des pics de biomasse des espèces qui se met en place avec la diversité génétique des espèces. Parallèlement à cela, la mise au point d'un outil génomique d'assignation variétale, nous a permis de mettre en évidence de la sélection au sein des espèces ce qui laisse suggérer que cette sélection à l'échelle intraspécifique pourrait être à la base de la différenciation de niches des espèces.

#### - Production scientifique et valorisation

- Litrico I. and Violle C. (2015) Diversity in plant breeding: a new conceptual framework. Trends in Plant Science, 20(10): 604-13.
- Prieto I. *et al.* (2015). Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands. Nature Plants, 1, 4.
- Litrico I. *et al.* (2016). Utiliser les mélanges fourragers pour s'adapter au changement climatique : opportunités et défis. Fourrages, 225, 11-20.
- Durand J.L. *et al.* (2016). Progresser dans la simulation mathématique des performances des mélanges de variétés fourragères pour composer et améliorer les prairies. Fourrages, 225, 21-28.
- Prieto I. *et al.* (2017). Five species, many genotypes, broad phenotypic diversity: when agronomy meets functional ecology. American Journal of Botany, 104(1): 1-10.
- Faverjon L. *et al.* (2017). A Conserved Potential Development Framework Applies to Shoots of Legume Species with Contrasting Morphogenetic Strategies. Frontiers in plant Sciences, Volume 8, doi:10.3389/fpls.2017.00405.





(a) Expérimentation en microcommunautés testant l'effet de la diversité génétique sous deux régimes hydriques, installée à l'INRA de Lusignan. (b) Expérimentation en microparcelles testant l'effet de la diversité variétale installée sur le site de l'Entreprise Jouffray Drillaud – Saint Sauvant (86).

Le projet PRAISE est un projet de recherche collaborative public-privé (PRCE: Projet de Recherche Collaborative-Entreprises). Le projet a démarré en février 2014 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide de l'ANR de 419 597€.

**Partenaires :** Unité Pluridisciplinaire Prairies et Plantes Fourragères (INRAE), UMR CEFE (CNRS), UR AGPF (INRAE), Entreprise Jouffray-Drillaud filiale TERRENA.

#### COORDINATRICE

Isabelle Litrico: isabelle.litrico-chiarelli@inra.fr

#### REGULEG

Identification des régulateurs participant à la plasticité d'adaptation des graines de légumineuses aux changements environnementaux

#### - Rappel des objectifs

Les légumineuses à graines, riches en protéines et ayant la capacité de fixer l'azote atmosphérique s'imposent comme une culture de choix pour répondre aux enjeux de la sécurité alimentaire et de l'agriculture durable. Cependant, l'adoption des légumineuses par les agriculteurs français et européens demeure fortement entravée par l'instabilité des rendements grainiers et de la teneur et composition en protéines des graines due aux fluctuations de l'environnement, en particulier la sécheresse et la chaleur. Un levier supplémentaire permettant de stabiliser, voire augmenter les rendements, est la production de semences vigoureuses à haute qualité germinative. Dès lors, la création de variétés présentant à la fois des rendements, une composition protéique stable et une qualité germinative irréprochable face à l'environnement fluctuant est nécessaire. L'objectif de ce projet est d'identifier les gènes régulant la plasticité phénotypique liée à la composition des graines et à leur qualité germinative par une étude d'association pan-génomique (GWAS). Une approche translationnelle utilisant les ressources disponibles chez Medicago truncatula et visant à transférer les acquis vers le pois est utilisée.



Le phénotypage de graines de la population HAPMAP d'écotypes de Medicago truncatula produites en conditions optimales et sous stress hydrique montre une grande variabilité génétique dans la réponse du rendement grainier, de la composition des graines et des caractéristiques de vigueur germinative face au stress. Cette réponse est étonnamment très plastique selon le caractère étudié. Elle suggère des mécanismes d'adaptation, notamment pour ce qui concerne certains traits liés à la qualité germinative. Nos données montrent également que la plasticité liée à la qualité nutritionnelle n'est pas corrélée à la plasticité liée à la qualité germinative, suggérant qu'il est possible d'améliorer l'un sans impacter négativement l'autre. L'analyse GWAS issue de plusieurs modèles d'association développée dans ce projet a révélé un certain nombre de loci intéressants caractérisant la plasticité du rendement grainier, de la composition en protéines et qualité germinative. La caractérisation fonctionnelle de gènes candidats sous-jacents est en cours chez Medicago truncatula et le pois.

#### Production scientifique et valorisation

Revues à comité de lecture :

- Pecrix Y. et al. (2018). Whole-genome landscape of *Medicago truncatula* symbiotic genes, Nature Plants, in press.
- Leprince O. et al. 2016. Late seed maturation: drying without dying. Journal of Experimental Botany doi: 10.1093/jxb/erw363.

#### Communications (conférence):

- ▶ Buitink J. (2018). Understanding the plastic response of legume seed longevity to drought using natural genetic variation, GRC Water and Salt Stress Tolerance, Waterville Valley, MA, USA 4-6 juin.
- Berriri S. Étude GWAS chez Medicago truncatula afin d'identifier de nouveaux régulateurs de la longévité. Graines 2017, 17-19 octobre 2017, Montpellier.



Crédit : J. Buitink.

- ▶ Buitink J. (2017). REGULEG: Identifying regulators of legume seed adaptation to environmental changes. Animation scientifique Interactions abiotiques, GIS-BV, Paris, 6 déc.
- Buitink J. (2018). Seed maturation and the acquisition of seed quality. Limagrain Academy, Seed course Vilmorin-Mikado, 29 janv.
- Cartelier K. *et al.* (2018). Optimiser et stabiliser la composition protéique des graines de légumineuses. Poster, RFL2, Toulouse, 17 et 18 octobre. Prix du meilleur poster.

Le projet REGULEG est un projet de recherche fondamentale. Le projet a démarré en décembre 2015 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 562 582 €.

Partenaires: UMR Institut de Recherche en Horticulture et Semences (INRAE), UMR Agroécologie (INRAE), UMR AGAP (Cirad), Montpellier, UMR Institut des Sciences des Plantes (INRAE).

#### COORDINATRICE

Julia Buitink: julia.buitink@inra.fr

#### SecPriMe<sup>2</sup>

#### Balance entre métabolisme primaire et secondaire dans une forêt méditerranéenne soumise au changement climatique

#### - Rappel des objectifs

Le programme SecPriMe<sup>2</sup> étudie la réponse des écosystèmes forestiers méditerranéens à l'aridification prévue par les modèles climatiques. La forêt de chênes pubescent (Quercus pubescens) est particulièrement sensible aux changements climatiques car elle se situe dans des zones de transitions bioclimatiques.

Notre hypothèse est celle d'un impact en cascade de l'augmentation de la sècheresse, affectant le métabolisme primaire (photosynthèse, croissance), le métabolisme secondaire, par un accroissement de la production de métabolites secondaires de défenses dans les feuilles et la litière. Ceci pourrait affecter le processus de décomposition et les interactions biotiques. De plus, la remise à disposition des ressources pourrait à son tour modifier la balance métabolisme primaire vs métabolisme secondaire et le bilan du carbone.

#### - Résultats du projet

#### Exclusion de pluie : conséquences écophysiologiques et fonctionnelles

Le système d'exclusion de pluie de la plateforme expérimentale de l'O<sub>3</sub>HP a permis d'exclure, tout au long du projet, entre 30 et 35 % des pluies durant la période de végétation simulant un stress hydrique aggravé tel que prévu par les scénarios climatiques. Durant quatre années, des arbres de la parcelle contrôle (sécheresse naturelle) et de la parcelle exclue (sécheresse aggravée) ont été suivis en termes de phénologie, de croissance, de paramètres photosynthétiques, de nutriments, de production de composés secondaires et d'antioxydants. En parallèle, des expérimentations permettant de mesurer l'impact de la sécheresse accrue sur des processus écosystémiques comme la décomposition des litières ou les processus allélopathiques ont été réalisées in situ, en pépinière et en laboratoire. La biodiversité liée à ces processus a également été analysée afin de mettre en évidence les changements de communautés. Les résultats montrent que la sécheresse aggravée imposée aux chênes a eu un effet limité sur leur métabolisme, mais que celui-ci a évolué avec la récurrence du stress. Contrairement aux hypothèses initiales, les chênes ont maintenu leur croissance au détriment des composés secondaires de défense. Les effets sur les processus sont plus accentués. La sécheresse aggravée diminue la biodiversité du sol et le processus de décomposition et accentue l'effet négatif des composés secondaires sur le développement des herbacées et du chêne pouvant ainsi modifier les communautés végétales et le fonctionnement de cet écosystème.

#### Production scientifique et valorisation

- Genard A-C. et al. (2014). Doi: 10.1371/journal.pone.0112418
- Genard A-C. et al. (2015). BVOC (isoprene) emissions from a Mediterranean Quercus pubescens and Acer monspessulanum canopy under mild drought. Atmos. Chem. Phys. 15 (1): 431-446.
- Santonja M. et al. (2015). DOI: 10.1007/s10021-015-9896-3
- Santonja M. et al. (2015). DOI: 10.1007/s11104-015-2471-z
- Fernandez C. et al. (2016). DOI: 10.3389/fpls.2016.00594
- Santonja M. et al. (2017). DOI: 10.1111/1365-2745.12711
- Saunier A. et al. (2017). DOI: 10.3389/fpls.2017.00071 Saunier A. et al. (2017) Doi:10.5194/acp-2016-836.
- ► Hashoum H. et al. (2017). DOI: 10.1007/s10342-017-1066-z
- Saunier A. et al. (2018). DOI: 10.1111/pce.13331
- Santonja M. et al. (2018). DOI: 10.1016/j.soilbio.2018.06.020
- Gavinet J. et al. (2018). DOI: 10.1007/s11104-018-3711-9





Vue de l'O<sub>3</sub>HP: Système d'exclusion de pluie déployé sur la forêt de chênes pubescents permettant de simuler l'aggravation de la sècheresse prévue par les scénarios de changement climatique (à gauche système ouvert – système fermé permettant l'exclusion)

- Genard A-C. et al. (2018). DOI: 10.5194/bg-15-4711-2018
- Aupic-Samain A. et al. (2019). DOI: 10.1016/j.pedobi.2019.01.003
- Gavinet J. et al. (2019). Phenolics of the understory shrub Cotinus coggygria as driver of Mediterranean oak forests diversity and dynamics. Forest Ecology and Management.

Participation à 10 congrès internationaux : 12 communications orales et 11 posters et à 2 communications dans des réunions nationales.

Le projet SecPriMe2 est un projet de recherche fondamentale. Le projet a débuté en août 2012 pour une durée totale de 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 659 984 €.

Partenaires: UMR IMBE (Université Aix-Marseille), UMR LSCE (Université Paris Diderot), UMR BIAM (ex-IBEB) (CEA), UMR CE-REGE (ex-GSE) (INRAE).

#### COORDINATRICE

Catherine Fernandez: catherine.fernandez@imbe.fr

### La compréhension et la valorisation des interactions favorables plante et microorganismes

**AeschyNod** p. 56 **BacterBlé** p. 57 **EPISYM** p. 58 **Eumetasol** p. 59 INCITE p. 60 **LCOinNONLEGUMES** p. 61 **MICROFEED** p. 62 POLLINET p. 63 **REPLAY** p. 64 **SHAPE** p. 65 **SymbioMaize** p. 66 **SYMNALING** p. 67 UNLOCKP p. 68 **WHEATSYM** p. 69

#### **AeschyNod**

Une approche de génétique directe couplée à un séquençage de génome pour identifier les gènes de la symbiose facteurs Nod-indépendante chez la légumineuse Aeschynomene evenia

#### - Rappel des objectifs

La légumineuse tropicale *Aeschynomene evenia* a émergé comme nouveau modèle d'étude d'un processus symbiotique alternatif qui ne passe pas par la reconnaissance des facteurs Nod considérés comme la clé de voute de la symbiose rhizobium-légumineuse. La compréhension des mécanismes moléculaires de cette symbiose facteurs Nod-indépendante apporterait un éclairage important sur l'évolution de la nodulation et elle pourrait être utilisée pour l'amélioration ou le transfert de la capacité à fixer l'azote chez les plantes d'intérêt agronomique. Pour mettre à jour ces mécanismes symbiotiques chez *A. evenia*, nous avons combiné le séquençage de son génome à une approche mutant.

#### - Résultats du projet

Pour identifier des gènes d'A. evenia impliqués dans la symbiose facteurs Nod-indépendante, une approche de génétique directe a été mise en œuvre. Une population de mutagenèse a été générée par traitement de 8000 graines à l'EMS et le crible de 67 000 plantes de cette population a permis d'isoler 250 mutants de nodulation répartis dans les catégories Nod- (51 %), Inf-(17 %), Fix- (28 %) et Nod++ (4 %). Pour faciliter l'identification des gènes symbiotiques altérés chez ces mutants, le génome d'A. evenia (2n=20, 400 Mb) a été séquencé par PacBio fournissant une couverture de 78x et couvrant 92 % du génome. Les scaffolds PacBio ont été assemblés en chromosomes à l'aide de deux cartes génétiques et l'annotation du génome a conduit à l'identification de 32 700 gènes (score BUSCO : 94 %). Ce génome de référence a été utilisé pour entreprendre le séquençage de gènes symbiotiques, identifiés chez d'autres légumineuses, par Targeted Sequence Capture sur la collection de mutants de nodulation. Cette stratégie a permis d'identifier des mutations dans la plupart des gènes de la voie de signalisation symbiotique mais aucune dans les gènes codant les récepteurs des facteurs Nod. Une approche de reséquençage génomique dite de Mapping-by-Sequencing est maintenant mise en œuvre pour identifier de nouveaux gènes symbiotiques. Elle a déjà été fructueuse pour découvrir un récepteur-kinase et une kinase qui sont en cours de caractérisation afin de préciser leur rôle symbiotique et de comprendre comment elles ont évolué chez les légumineuses.

#### - Production scientifique et valorisation

- ▶ Brottier L. *et al.* (2018). A phylogenetic framework of the legume genus Aeschynomene for comparative genetic analysis of the Nod-dependent and Nod-independent symbioses. *BMC Plant Biol.* 18(1):333.
- Chaintreuil C. *et al.* (2018). Naturally occurring variations in the nod-independent model legume *Aeschynomene evenia* and relatives: a resource for nodulation genetics. *BMC Plant Biol.* 18(1):54.

Le projet AeschyNod est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en octobre 2014 et a duré 60 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 298 387 €.

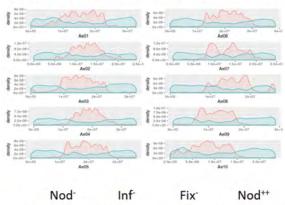
**Partenaires :** UMR LSTM ( CIRAD), plateforme GénoToul BioInfo (INRAE), plateforme SouthGreen (Agropolis), UMR-AGAP (CIRAD).

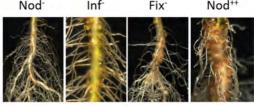
#### COORDINATEUR

Jean-François Arrighi: jean-françois.arrighi@ird.fr

# Comprendre les mécanismes de la symbiose facteurs Nod-indépendante Aeschynomene evenia (2n=20 ; 400 Mb) LSTM-IRD ©

#### Génome de référence par séquençage PacBio





Collection de 250 mutants de nodulation

#### **BacterBlé**

Effets phytobénéfiques des rhizobactéries pour l'adaptation du blé à la limitation en azote et au stress hydrique

#### — Rappel des objectifs

Le projet BacterBlé visait à valoriser les bactéries rhizosphériques stimulatrices de la croissance des plantes (PGPR) afin de maintenir les rendements du blé en dépit d'une réduction des engrais azotés et de l'irrigation, en prenant en compte les faits que (i) les variétés de blé n'ont pas toutes la même capacité d'interaction avec les PGPR et (ii) la sélection variétale a négligé le potentiel de ces interactions symbiotiques. L'objectif principal est donc d'identifier quels types de génotypes de blé ont le potentiel de valoriser les effets phytobénéfiques des PGPR.

#### — Résultats du projet

Lorsque nous avons testé 198 génotypes de blé datant du 19e siècle à nos jours, sur la base de leur capacité à interagir en conditions simplifiées avec deux PGPR modèles (Pseudomonas kilonensis F113 et Azospirillum brasilense Sp245), nous avons observé que les niveaux de colonisation bactérienne et d'expression des gènes phl (production de phloroglucinols par P. kilonensis F113) et ipdC (synthèse d'auxine par A. brasilense Sp245) variaient selon les génotypes de blé étudiés, sans forcément de corrélation entre colonisation et expression. Néanmoins, on retrouve des niveaux de colonisation par les deux souches et d'expression des gènes phID et ipdC supérieurs chez les génotypes plus anciens, révélant l'impact de la sélection variétale sur l'interaction blé-PGPR. Même si les génotypes modernes de blé sont collectivement moins efficaces pour interagir avec les PGPR, certains ont néanmoins maintenu un potentiel d'interaction élevé

Pseudomonas kilonensis F113

#### Production scientifique et valorisation

- Cormier F. et al. (2016). Breeding for increased nitrogen use efficiency: a review for wheat (Triticum aestivum L.). Plant Breeding 135:255-278
- ▶ Valente J. (2019). Ancient wheat varieties have a higher ability to interact with plant growth-promoting rhizobacteria. Plant Cell & Environment. https://doi.org/10.1111/pce.13652
- 4 conférences dans des réunions internationales.

Le projet BacterBlé est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en avril 2015 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 373 992 €.

Partenaires : UMR Ecologie microbienne (Université Claude Bernard), UMR GDEC (INRAE), entreprise Biogemma.

#### COORDINATEUR

Yvan Moënne-Loccoz : yvan.moenne-loccoz@univ-lyon1.fr

#### ou Quantification de l'efficacité de l'interaction blé × bactérie Inoculation Identification des variétés interagissant efficacement avec les rhizobactéries **Identification de QTLs** d'interaction avec les bactéries bénéfiques 200 variétés de blé

Azospirillum brasilense Sp245

#### **EPISYM**

## Régulations épigénétiques du développement des nodosités symbiotiques chez les légumineuses

#### - Rappel des objectifs

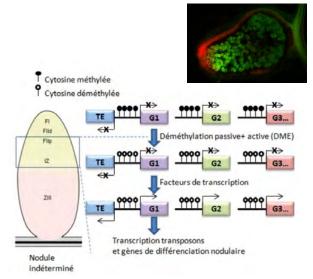
Le projet EPISYM cherche à comprendre le rôle des régulations épigénétiques dans les reprogrammations transcriptomiques qui accompagnent le développement des nodosités fixatrices d'azote lors de l'interaction symbiotique Rhizobium-Légumineuses. Nous étudierons chez la légumineuse modèle Medicago truncatula a) la dynamique de la méthylation de l'ADN et d'autres marques épigénétiques et des populations de petits ARN interférents (siARN) au cours de la nodulation, b) les fonctions de trois gènes candidats codant pour des enzymes clés du contrôle de la méthylation (MtDME, ou DEMETER-like), de la production des siARNs hétérochromatiques (MtDCL3) et une ribonucléase III atypique (MtRTL1), dont l'homologue a été associé à la reprogrammation des populations de siARNs chez Arabidopsis thaliana. Ces données génétiques et génomiques seront intégrées dans une base de données, accessible à la communauté scientifique, qui permettra d'obtenir une vue générale de l'impact des régulations épigénétiques au cours de la symbiose et en particulier lors de la différenciation des nodosités racinaires.

#### - Résultats du projet

Des expériences de RNASeq préliminaires (ARN non codants, petits ARNs) ont montré qu'une grande partie des données obtenues ne pouvaient pas être localisée correctement sur la version disponible du génome de *M. truncatula*. Ainsi, nous avons décidé dans un premier temps de compléter le séquençage du génome à l'aide de la technologie PACBIO, d'y annoter avec précision les éléments répétés, et de le coupler avec une grande diversité d'analyses haut débit (petits ARNs, long ARNs codants ou non codants, marques épigénétiques des histones, méthylation de l'ADN)

Cette initiative, menée par notre consortium avec le soutien des projets ANR NODCCAAT et REGULEG, a abouti à un article collaboratif comparant, à l'échelle du génome, les régulations épigénétiques dans des racines et des nodosités (Pécrix et al., 2018). Cette étude a mis en évidence la présence de nombreux clusters de gènes co-régulés lors de la nodulation (« îlots symbiotiques »), au profil épigénétique particulier et particulièrement riches en ARNs non codants. Nous avons aussi montré que le méthylome de l'ADN est fortement modifié localement au cours de la différenciation des nodosités et que la déméthylase *Mt-DME* est impliquée dans ce processus essentiel pour la formation de nodosités fonctionnelles (Satgé et al., 2016).

Ainsi, la répression de l'expression de MtDME par ARN interférence est corrélée avec la sous-expression et l'hyper-méthylation de l'ADN au niveau de nombreux loci de gènes impliqués dans la différenciation des nodosités, ce qui explique leur phénotype fix-. Comme pour MtDME, les nodosités sous-exprimant MtRTL1 sont majoritairement non fonctionnelles. Cependant, ce phénotype semble lié essentiellement à une mortalité importante des bactéroides au sein des cellules infectées. A l'inverse, les nodosités affectées dans l'expression de MtDCL3 sont fonctionnelles, plus grosses que celles des contrôles et présentent une morphologie de type multilobé, liée à la mise en place et au maintien de de plusieurs méristèmes.



Le nodule indéterminé fonctionnel comprend cinq zones majeures : une zone méristématique apicale (FI), une zone d'infection par le rhizobium (FIId), une zone de différenciation (FIIp), une interzone II-III (IZ, correspondant aux évènements de différenciation tardifs) et une zone de fixation de l'azote atmosphérique (ZIII), Plusieurs centaines de gènes (dénommés ici G1, G2, G3...) montrent une hyperméthylation de leur région promotrice dans la partie apicale du nodule (FI et FIId.) et une hypométhylation dans les zones de différenciation (FIIp et IZ). Un certain nombre d'entre eux sont à proximité immédiate d'éléments transposables (TE) co-régulés. La déméthylation peut être passive (par arrêt d'expression des méthylases) ou active via l'ADN déméthylase DEMETER (DME). Nous proposons que le rôle principal de la déméthylation soit de favoriser l'accès de facteurs de transcription et de permettre ainsi l'activation transcriptionnelle de gènes de différenciation nodulaire. Crédit : Inra, Carine Satgé et Pascal Gamas.

\* Déméthylations : elles concernent une partie des cytosines, une des quatre

Déméthylations: elles concernent une partie des cytosines, une des quatre bases constitutives de l'ADN; lorsque les cytosines sont méthylées, la séquence ADN n'est pas modifiée, mais l'expression génique peut être altérée; l'étude de ce phénomène relève de l'épigénétique.

#### - Production scientifique et valorisation

- Satgé C. et al. (2016). Reprogramming of DNA methylation is critical for nodule development in *Medicago truncatula*. Nature Plants 2:16166; doi:10.1038/nplants.2016.166.
- Pécrix Y. et al. (2018). Whole-genome landscape of *Medicago truncatula* symbiotic genes. Nature Plants, 4(12):1017-1025, doi: 10.1038/s41477-018-0286-7.
- Gamas P. (2016). Un nouveau chef d'orchestre pour le développement des nodules fixateurs d'azote.

Brève INSB CNRS : site web INSB : http://www.cnrs.fr/insb/re-cherche/parutions/articles2016/p-gamas.html, et Twitter via le compte de l'INSB ; CNRS hebdo Midi-Pyrénées N° 414 ; site web INRA Toulouse : http://www.toulouse.inra.fr/Toutes-les-actualites/Pascal-GAMAS.

Le projet EPISYM est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en décembre 2015 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 484 256 €.

Partenaires: UMR IPS2 (Université Paris-Sud), UMR LIPM (CNRS).

#### COORDINATEUR

Martin Crespi: martin.crespi@u-psud.fr

\_\_

# Eumetasol Exploring the soil eukaryotic metatranscriptome? a biotech resource

#### - Rappel des objectifs

Les très nombreux microorganismes eucaryotes des sols, dont les champignons, jouent un rôle essentiel dans le maintien de leur fertilité et représentent une source potentielle de gènes d'intérêt biotechnologique. Il s'agit par exemple des gènes codant les enzymes permettant la dégradation de la biomasse végétale (cellulases, hémicellulases, peroxydases) largement utilisées dans différents secteurs industriels.

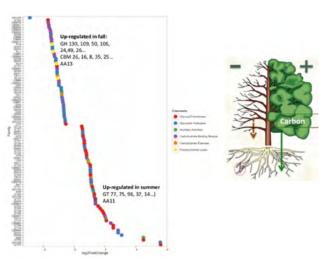
Eumetasol se proposait ainsi d'évaluer la diversité tant taxonomique que fonctionnelle de ces organismes du sol ainsi que d'évaluer l'impact de différents facteurs environnementaux sur cette diversité. Nous avons ainsi exploré par différentes approches les métatranscriptomes eucaryotes de sols prélevés sur trois sites d'étude en France. En effet, en se focalisant sur la fraction polyadénylée des ARN extraits directement de sols, la métatranscriptomique permet de se limiter à l'étude des organismes eucaryotes. Les trois sites étudiés permettaient d'appréhender l'impact de différents facteurs environnementaux sur la diversité fonctionnelle des eucaryotes des sols, la métatranscriptomique : le couvert végétal, l'usage des terres et les conséquences des variations saisonnières et des changements climatiques comme une diminution de la pluviométrie.

#### - Résultats du projet

Sur le plan méthodologique, Eumetasol a permis de lever des verrous techniques, comme la mise au point de méthodes d'extraction d'ARN de sols utilisables sur des matrices riches en matière organique. Les ARN extraits se prêtent à un séquençage direct, ou après sélection des ARNm polyadénylés, au séquençage des métatranscriptomes eucaryotes. Eumetasol a aussi conduit au développement d'une méthode originale de piégeage d'ADNc issus de la rétrotranscription d'ARN de sols. Cette méthode permet une étude en profondeur et ciblée de certaines familles de gènes codant des enzymes de dégradation de la biomasse dont l'expression peut être réalisée dans la levure *S. cerevisiae*.

Nous avons réalisé le séquençage systématique des métatranscriptomes aussi bien totaux (ARNr et ARNm) que polyadénylés (ARNm eucaryotes), ainsi que des analyses ciblées portant sur les communautés fongiques (métabarcoding) et des familles de gènes codant des enzymes lignocellulolytiques (« métabarcoding fonctionnel »). Les analyses statistiques ont mis en évidence une variabilité temporelle (saisonnière) des métatranscriptomes, mais pas d'effet significativement mesurable d'une réduction de la pluviométrie. Au contraire, la nature du couvert végétal forestier (feuillus versus conifères) a un fort impact sur les communautés fongiques ainsi que sur la diversité des gènes lignocellulolytiques qu'elles expriment.

L'approche métatranscriptomique apparait ainsi une approche particulièrement intéressante, non seulement pour appréhender l'impact de facteurs environnementaux sur les activités microbiennes du sol, mais aussi pour accéder à la diversité fonctionnelle de celles-ci dans l'optique de leur utilisation comme sources de nouveaux biocatalyseurs issus d'espèces microbiennes eucaryotes potentiellement non cultivables.



Régulation saisonnière des principales familles de glycoside hydrolases, glycosyltransférases et lyases, observée sur le site de Breuil (hêtraie). Ces enzymes d'origine fongique participent à la dégradation/modification de la matière organique d'origine végétale. M Buée et al., résultats non publiés.

#### - Production scientifique et valorisation

- ▶ Barbi F. *et al.* (2014) PCR primers to study the diversity of expressed fungal genes encoding lignocellulolytic enzymes in soils using high-throughput sequencing. PLoS One. 9:e116264.
- ▶ Barbi F. et al. (2016) Tree species select diverse soil fungal communities expressing different sets of lignocellulolytic enzyme-encoding genes. Soil Biology and Biochemistry, 100:149-159.
- ▶ Bragalini C. *et al.* (2014) Solution hybrid selection capture for the recovery of functional full-length eukaryotic cDNAs from complex environmental samples. DNA Research. 21:685-694.
- Fraissinet-Tachet L. et al. (2013). Metatranscriptomics of soil eukaryotic communities. In "Ecological Genomics of the Fungi". MARTIN F (Ed). John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, pp 305-323.
- Marmeisse R. *et al.* (2017) Discovering Protein-Coding Genes from the Environment: Time for the Eukaryotes? Trends in Biotechnology. 35:824-835. doi:10.1016/j.tibtech.2017.02.003.
- ▶ Yadav RK. *et al.* (2016) Metatranscriptomics of Soil Eukaryotic Communities. Methods in Molecular Biology 1399:273-287. doi: 10.1007/978-1-4939-3369-3\_16.

Le projet Eumetasol est un projet de recherche fondamentale. Le projet a commencé en janvier 2010 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 417 600 €.

Partenaires : UMR LEM (Université Lyon 1), UMR LECA (CNRS - Université Joseph Fourrier), UMR laM (INRAE - Université de Lorraine).

#### COORDINATEUR

Roland Marmeisse: roland.marmeisse@univ-lyon1.fr

#### INCITE

#### Réponse intégrée des interactions entre plante, microorganismes du sol et cycle de l'azote aux régimes de précipitations

#### - Rappel des objectifs

L'objectif général du projet INCITE est de comprendre les couplages spatiaux et temporels entre i) les régimes de précipitations (répétition d'événements pluvieux de fréquence et d'intensité variables), ii) la structure et l'activité des communautés microbiennes du sol et les transformations de l'azote qui lui sont associées, iii) le prélèvement d'eau et d'azote par la plante, et comment ces couplages affectent la stabilité des fonctions écosystémiques. Les effets de régimes de précipitations contrastés sont étudiés en intégrant plante et sol, par des approches combinant microbiologie moléculaire, isotopes stables et biogéochimie.

#### - Résultats du projet

Une première expérimentation s'est intéressée à l'aspect spatial, en incluant la profondeur de sol dans le dispositif. Les premiers résultats montrent i) le contrôle de la réponse microbienne à la réhumectation par la profondeur plus que le régime de précipitations, ii) la forte altération du couplage entre plantes et microorganismes du sol dans le sol superficiel (0-10 cm) en régime de précipitations moins fréquentes, iii) une réponse différente entre bactéries et champignons du sol, qui laisse présager d'effets sur les cycles biogéochimiques dans le sol.

Dans un deuxième temps, nous avons réalisé un suivi de la dynamique temporelle de notre système blé-sol, durant près de 30 heures après réhumectation. Les résultats indiquent des effets du régime de précipitations durables dans cette fenêtre temporelle i) sur le couplage plante-microorganismes du sol, très réduit en régime de précipitations moins fréquentes, et ii) sur la compétition entre plantes et microbes pour l'azote, des conditions de croissance plus favorables pour la plante se répercutant sur sa capacité à assimiler l'azote du sol après la réhumectation.

#### Production scientifique et valorisation

▶ Engelhardt I.C. et al. (2018). Depth matters: Effects of precipitation regime on soil microbial activity upon rewetting of a plant-soil system. *The ISME Journal*, in press.



Blé cultivé dans la plateforme 4PMI de l'UMR Agroécologie (Dijon), pour l'expérience de suivi temporel de la réhumectation. Crédit : R. Barnard.

Le projet INCITE est un projet de recherche fondamentale. Le projet a débuté en décembre 2013 pour une durée totale de 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 235 382 €.

Partenaires: UMR BIOGER (INRAE).

#### COORDINATEUR

Romain Barnard: romain.barnard@inra.fr

#### **LCOinNONLEGUMES**

#### Perception des lipo-chitooligosaccharides et rôles de leurs récepteurs putatifs chez les non légumineuses

#### — Rappel des objectifs

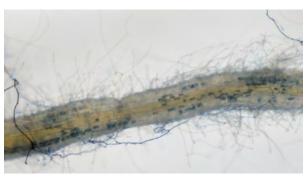
Il existe chez les plantes capables d'établir la symbiose mycorhizienne à arbuscules (SMA) et/ou avec des bactéries fixatrices d'azote de type Rhizobium, une voie de signalisation requise pour la colonisation des racines par ces microorganismes bénéfiques. Des lipo-chitooligosaccharides (LCO) sécrétés par les Rhizobia, activent cette voie de signalisation et sont indispensables à la formation de la symbiose entre Rhizobia-légumineuses. Des LCO produits par des champignons mycorhiziens à arbuscules activent aussi cette voie de signalisation mais leur rôle exact dans la symbiose mycorhizienne à arbuscules (SMA) n'est pas connu. L'objectif principal du projet était d'identifier des récepteurs de LCO chez des non légumineuses et de déterminer leur rôle dans la SMA.

#### - Résultats du projet

Nous avons identifié un récepteur de LCO chez la tomate et montré que le gène est impliqué dans la mise en place de la SMA. Nos résultats montrent par ailleurs qu'un ancêtre de ce gène a été recruté au cours de l'évolution pour percevoir les LCO au cours de la mise en place de la symbiose rhizobia-légumineuses. En revanche, le récepteur de LCO chez la tomate n'est pas indispensable pour la mise en place de la SMA suggérant que d'autres signaux peuvent activer la voie de signalisation symbiotique nécessaire à la mise en place de la SMA.

#### Production scientifique et valorisation

- ▶ Buendia L. et al. (2016) The LysM receptor-like kinase SILYK10 regulates the arbuscular mycorrhizal symbiosis in tomato. New Phytologist 210, 184-195.
- Lefebvre B. et al. (2012). Role of N-glycosylation sites and CxC motifs in trafficking of Medicago truncatula Nod Factor Perception protein to plasma membrane. The Journal of Biological Chemistry 287, 10812-10823.
- Park C.J. et al. (2013). The endoplasmic reticulum-quality control component SDF2 is essential for XA21-mediated immunity in rice. Plant Science 2010, 56-60.
- Pietraszewska-Bogiel A. (2013). Interaction of Medicago truncatula Lysin motif receptor-like kinases, NFP and LYK3, produced in Nicotiana benthamiana induces defence-like responses. PLoS ONE 8(6): e65055. doi:10.1371/journal.pone.0065055.
- Fliegmann J. et al. (2013). Lipo-chitooligosaccharidic symbiotic signals are recognized by the LysM receptor like kinase LYR3 in the legume Medicago truncatula. ACS Chemical Biology, 8, 1900-1906.



Racine de tomate colonisée par un champignon mycorhizien à arbuscules (coloré à l'encre bleue). Crédit : Benoit Lefebvre.

Le projet LCOinNONLEGUMES est un projet Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a commencé en novembre 2010 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 205 102 €.

Partenaire: UMR LIPM (INRAE).

#### COORDINATEUR

Benoit Lefebvre: benoit.lefebvre@inra.fr

#### **MICROFEED**

Comprendre le rôle du microbiote intestinal pour améliorer l'efficacité et la robustesse de la production porcine

#### - Rappel des objectifs

L'amélioration de l'efficacité alimentaire des porcs, en augmentant le revenu de l'éleveur, en diminuant les quantités de rejets porcins dans l'environnement par une meilleure utilisation des ressources, et en diversifiant les ressources alimentaires possibles pour les porcs améliorés de façon à mieux utiliser des intrants sub-optimaux et à limiter la concurrence avec les besoins en terres agricoles pour l'alimentation humaine, est identifiée comme un des leviers majeurs de l'agro-écologie pour les systèmes de production conventionnels porcins. MICROFEED propose l'étude d'un partenaire inexploré de l'élevage – le microbiote intestinal - pour repenser l'amélioration de l'efficacité de production et de la robustesse des porcs en élevage. Le microbiote est un partenaire essentiel de l'animal pour la mise à disposition de certains nutriments au niveau de l'intestin. C'est un acteur clé de l'utilisation de l'aliment pour la croissance, mais aussi pour le contrôle de la santé et de l'immunité, en particulier lorsque les aliments contiennent des fibres alimentaires. Au cours des 60 dernières années, l'amélioration de l'efficacité alimentaire des porcs a été réalisée par une adaptation des aliments et de l'environnement d'élevage (température, ventilation...) aux besoins des animaux, combinée au choix des porcs les plus performants pour produire de nouvelles générations plus efficaces. Les gains d'efficacité d'utilisation de l'aliment ainsi réalisés ont été spectaculaires (-2,5 écart types phénotypiques en 25 ans). Cependant, deux phénomènes se conjuguent pour limiter l'impact de ces avancées : 1. Le coût des ressources alimentaires de bonne qualité nutritionnelle augmente régulièrement, maintenant la part du coût alimentaire à environ 2/3 du coût de production, 2. Des ressources alternatives de moindre qualité (plus de fibres alimentaires) sont maintenant incorporées aux rations alimentaires pour limiter ces coûts. Or, les animaux sélectionnés sont mal adaptés à ces nouvelles ressources, qui demandent une capacité digestive accrue. L'objectif de MICROFEED est l'exploration de la composante « microbiote intestinal » et de son lien avec la génétique et la génomique de l'efficacité alimentaire et de la robustesse de l'hôte dans deux protocoles uniques pour l'étude de l'efficacité alimentaire pour identifier de nouveaux leviers pour la conduite et la sélection des porcs en élevage, en collaboration avec les professionnels de la sélection porcine française.

#### Production scientifique et valorisation

Communications lors de congrès internationaux :

- Déru V. et al. Genetics of digestive efficiency in growing pigs fed a conventional or a fiber-rich diet. Journal of animal Breeding and Genetics, soumis.
- Aliakbari A. et al. (2019). Reliability of the genomic predictions for the feed efficiency related trait based on different pig lines. Presented at Gordon Research conference: Quantitative genetics and genomics, Barga, ITA (2019-02-10 2019-02-15).
- ▶ Delpuech E. et al. (2019). Genome-wide association studies for feed efficiency with imputed genotypes in pigs. Presented at 37. International Society for Animal Genetics Conference (ISAG), Lleida, ESP (2019-07-07 2019-07-12).
- Aliakbari A. et al. (2019). Reliability of genomic predictions for feed efficiency traits based on different pig lines. In: Book of Abstracts of the 70th Annual meeting of the European Federation of Animal Science (EAAP) (p. 666-666). Annual Meeting of the European Association for Animal Production, 25. Ghent, BEL (2019-08-26 2019-08-30). Wageningen, NLD: Wageningen Academic Publishers. 717 p.
- Déru V. et al. 2019. Digestive efficiency is a heritable trait to further improve feed efficiency in pigs. In: Book of Abstracts of the 70th Annual meeting of the European Federation of Animal Science (EAAP) (p. 415). Annual Meeting of the European Association for Animal Production, 25. Ghent, BEL (2019-08-26 2019-08-30).

Le projet MICROFEED est un projet de recherche collaborative public-privé (PRCE : Projet de Recherche Collaborative-Entreprises). Le projet a débuté en juin 2017 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 719 339 €.

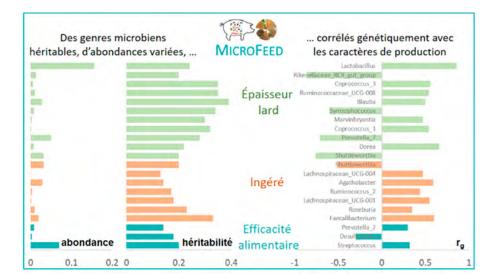
Partenaires: UMR GenPhySE (INRAE), UMR PEGASE (INRAE), UMR GABI (INRAE), UE GenESI Génétique (INRAE), UE Porcs de Rennes (INRAE), IFIP-INSTITUT DU PORC, Entreprise FGPorc France Génétique Porc.

#### COORDINATRICE

Hélène Gilbert : helene.gilbert@inra.fr

#### — Résultats du projet

Non publiés.



#### **POLLINET**

## Structure et efficacité des réseaux de pollinisation dans des environnements changeants

#### - Rappel des objectifs

Le déclin des abeilles lié aux activités humaines a de sérieuses conséquences sur les écosystèmes et la sécurité alimentaire. Le risque d'une crise de pollinisation, provoquant une diminution du rendement des cultures, fait de l'étude des systèmes plantes-pollinisateurs une priorité sociétale. Depuis 10 ans, la plupart des recherches s'est focalisée sur la question : quels pollinisateurs visitent quelles plantes ? Et à quelles fréquences ? Premier pas important, ces études pointent du doigt l'importance d'étudier l'influence de ces interactions fragiles sur la pollinisation. Nos travaux ont montré que plusieurs espèces (abeilles domestiques, bourdons) utilisent des routes de butinage entre les différentes ressources de leur environnement (plantes, arbres, fleurs), ce qui peut avoir une influence critique sur les flux de pollen et la reproduction des plantes.

L'objectif de POLLINET est de développer une analyse à plusieurs échelles des systèmes plantes-pollinisateurs en disséquant les stratégies de butinage des abeilles, en identifiant leur impact sur la reproduction des plantes et en déterminant comment ces effets varient en réponse à des perturbations environnementales. Notre approche repose sur une analyse comparative des stratégies spatiales de deux pollinisateurs majeurs, le bourdon terrestre (*Bombus terrestris*) et l'abeille domestique (*Apis mellifera*), dans des environnements semi-contrôlés, où nous faisons varier la distribution des ressources, leur composition nutritionnelle et la densité des pollinisateurs (Figure 1). La comparaison d'espèces qui cohabitent en conditions naturelles mais qui présentent des organisations sociales différentes renseigne sur l'importance de la diversité des pollinisateurs dans ces interactions.

Le projet combine (1) des observations comportementales sur des insectes en vol libre collectant du nectar et du pollen dans des arrangements de fleurs artificielles automatisées et équipées de systèmes d'enregistrement automatisés en laboratoire et en milieu naturel, (2) des analyses de réseaux de déplacement par des approches mathématiques issues de la théorie des graphes, (3) et des simulations de modèles individus-centrés liant le comportement des insectes à la reproduction des plantes.

Ce projet interdisciplinaire (biologistes, écologues, physiciens) permet, de façon déterminante, l'intégration de concepts de l'écologie cognitive, comportementale, nutritionnelle, spatiale, végétale et de la génétique des populations, à ceux de la biologie computationnelle, de la physique et des mathématiques.

#### — Résultats du projet

Encore confidentiels car non publiés.

#### Production scientifique et valorisation

Le projet a donné lieu à 6 communications dans des congrès internationaux et 3 communications dans des congrès nationaux, un projet de recherche participative (Smartflower) en collaboration avec des élèves de Lycée (Granville) et une entreprise (Dassault Systems) (http://www.mathieu-lihoreau.com/smartflower/).

Les lycéens ont développé un prototype de « fleur connectée » que nous avons validé avec des bourdons en vol libre, testé en présence de nombreux journalistes (ex. : Le Journal du CNRS, France 3, Science et Vie, Ouest-France, La Croix) et du ministre de l'Éducation Nationale (Jean-Michel Blanquer) le 31/05/2018.

Le projet POLLINET est un projet de recherche fondamentale. Le projet a débuté en décembre 2016 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 308 076 €.

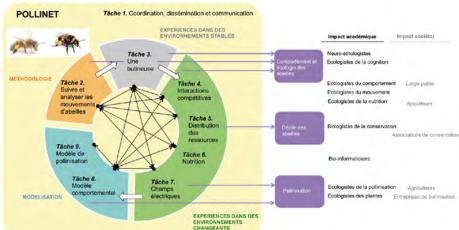
Partenaires: Centre de Recherches sur la Cognition Animale (CRCA) (CNRS).

#### COORDINATEUR

Mathieu Lihoreau: mathieu.lihoreau@univ-tlse3.fr



Bourdons sur une fleur artificielle en milieu naturel. Crédit : Tamara Gomez-Moracho.



Résumé graphique de POLLINET

#### **REPLAY**

# Rejouer l'évolution des rhizobia : vers un cadre conceptuel et pratique pour le design de nouveaux symbiotes fixateurs

#### - Rappel des objectifs

Un défi majeur de ce siècle est d'accroitre la production végétale tout en réduisant l'utilisation d'engrais azotés, i. e. l'impact environnemental de l'agriculture. Plusieurs stratégies sont envisagées, incluant le développement de céréales capables d'établir une symbiose de type « légumineuse-rhizobium ». Réaliser cet objectif nécessite de mieux comprendre comment ces associations naturelles se sont établies et ont évolué, et également de développer des outils innovants pour optimiser les associations existantes et développer de nouvelles symbioses.

L'objectif global de REPLAY est de fournir une meilleure compréhension des mécanismes adaptatifs qui ont permis à des bactéries d'évoluer vers une symbiose avec des légumineuses et également de développer un cadre conceptuel et pratique pour le design de nouveaux symbiotes fixateurs d'azote. REPLAY va utiliser le matériel biologique généré au cours de l'évolution expérimentale d'un pathogène de plante, Ralstonia solanacearum, en symbiote de légumineuse pour tenter de répondre aux questions suivantes : i) est ce que différents chemins évolutifs ont façonné l'évolution de Ralstonia symbiotiques dans les différentes lignées ? ii) comment le mutualisme, c'est-à-dire la fixation symbiotique de l'azote, peut évoluer à partir d'une interaction parasitique ? iii) l'évolution en laboratoire est-elle comparable à l'évolution naturelle ? iv) est ce que la cassette de mutabilité qui a accéléré le processus évolutif en laboratoire peut être exploitée pour manipuler l'évolvabilité des bactéries associées aux plantes dans une perspective biotech?

#### - Résultats du projet

Pour répondre à la question « est-ce que différents chemins évolutifs ont façonné l'évolution de Ralstonia symbiotiques dans les différentes lignées ? », nous avons recherché les mutations adaptatives dans différentes lignées dérivant du même ancêtre. Nous avons ainsi montré que l'infection intracellulaire peut évoluer à partir de mutations de gènes impliqués dans différents circuits de régulation, soit la voie efpR soit le système de quorum sensing (Tang et al., 2020). Pour répondre à la question « comment le mutualisme, c'est-à-dire la fixation symbiotique de l'azote, peut évoluer à partir d'une interaction parasitique ? », nous avons suivi la dynamique spatio-temporelle de deux composantes, différant uniquement par la présence d'un système fonctionnel ou non de fixation d'azote, d'une même population de Cupriavidus taiwanensis (symbiote du mimosa), au cours du processus symbiotique (Daubech et al. 2017). Nous avons montré que les bactéries Fix+ surclassent progressivement les Fixau cours du processus infectieux.

Environ 20 jours après l'inoculation, les bactéries Fix- et les cellules du nodule qui les hébergent dégénèrent spécifiquement, indiquant que le contrôle de la fixation de l'azote se produit au stade post-infectieux et au niveau de la cellule du nodule. Des simulations mathématiques, validées expérimentalement, montrent que les rares fixateurs au sein d'une population non fixatrice envahissent progressivement celle-ci au cours de cycles de nodulation avec une probabilité qui est fonction de facteurs écologiques, i.e. la taille de l'inoculum, le nombre de plantes inoculées et la durée du cycle de nodulation. Ce travail fournit des clés pour évoluer expérimentalement des symbiotes mutualistes.

Pour répondre à la question « l'évolution en laboratoire est-elle comparable à l'évolution naturelle ? », nous avons comparé l'émergence de symbiotes naturels (*C. taiwanensis*) et expérimentaux (*R. solanacearum*) de *Mimosa pudica* après transfert

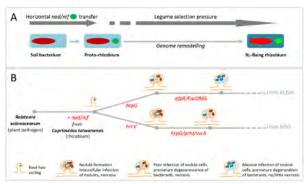


Figure. Evolution of Nod-rhizobia.

A. Model for the evolution of Nod-rhizobia. nod/nif-containing mobile genetic elements are horizontally transferred to diverse soil bacteria, conferring symbiotic potential that depends on the recipient genome. The resulting chimeric bacteria subsequently evolved by genome remodeling under legume selection pressure—which can take indefinite time-, allowing the recruitment of local regulatory and metabolic functions to better thrive in the new endosymbiotic environment.

 B. Experimental evolution of symbiotic Palstonia. The evolution of a Nod-

**B.** Experimental evolution of symbiotic *Ralstonia*. The evolution of a Nodrhizobium is being tested in the laboratory.

d'un plasmide symbiotique (Clerissi et al., 2018). En dépit de différences majeures concernant la durée, les protagonistes, les conditions et le degré d'achèvement de l'évolution, nous avons mis en évidence plusieurs similarités entre les deux processus. En particulier, i) l'adaptation s'est faite par des changements dans l'information génétique du génome receveur illustrant le fait que l'adaptation se fait souvent par changement du background génétique dans lequel le nouveau caractère, et ii) l'évolution vers la symbiose a suscité des changements dans la même voie de régulation chez *Cupriavidus* et *Ralstonia*, illustrant comment la modulation des réseaux de régulation cellulaires peuvent accompagner ou sous-tendre l'émergence de nouvelles fonctions. Avec cette étude, il semble donc envisageable d'inférer, au moins dans certain cas, l'évolution de systèmes naturels à partir d'expériences d'évolution en laboratoire.

#### - Production scientifique et valorisation

- ▶ Daubech B. *et al.* (2017). Spatio-temporal control of mutualism in legumes helps spread symbiotic nitrogen fixation. e-Life. 6:e28683
- Masson-Boivin C. and Sachs J. (2018). Symbiotic nitrogen fixation by rhizobia the roots of a success story.. Cur. Op. Plant Riol 44 7.15
- ► Tang M. *et al.* (2020). Modulation of quorum sensing as an adaptation to nodule cell infection during experimental evolution of legume symbionts. Mbio. DOI: 10.1128/mBio.03129-19.

Le projet REPLAY est un projet de recherche fondamentale. Le projet a démarré en décembre 2016 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 460 515 €.

Partenaires: UMR LIPM (INRAE), Institut Pasteur Paris, CEA, Institut de Génomique d'Évry (Université Paris Diderot).

#### COORDINATRICE

Catherine Masson-Boivin : catherine.masson@inra.fr

#### **SHAPE**

Design de nouveaux rhizobia par évolution expérimentale : vers une compréhension de l'adaptation des bactéries à l'environnement plante

#### - Rappel des objectifs

#### Rejouer, phénotyper et génotyper l'évolution des rhizobia

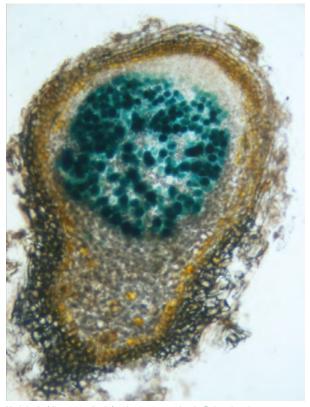
La capacité à fixer l'azote de l'air en symbiose avec les légumineuses a émergé il y a environ 70 à 130 millions d'années. Depuis cette capacité s'est propagée à des genres distants de deux sous-classes des Protéobactéries, par transfert horizontal de gènes symbiotiques essentiels suivi du remodelage du génome sous pression de sélection de la plante-hôte. SHAPE avait pour objectif de mieux comprendre comment cette symbiose a évolué. Pour réaliser cet objectif, SHAPE a exploité le matériel biologique précédemment généré par évolution expérimentale pour élucider les mécanismes bactériens adaptatifs conduisant à la symbiose avec une légumineuse. Dans cette expérience, un pathogène de plante (*Ralstonia solanacearum*) a été évolué en symbiote de légumineuse (*Mimosa*), à partir du transfert d'un plasmide symbiotique suivi de cycles répétés de co-culture plantes-bactéries.

#### - Résultats du projet

Nos travaux ont i) mis en évidence le potentiel de l'évolution expérimentale et l'importance du régime de sélection pour façonner certaines propriétés symbiotiques -nodulation, infection et persistance intracellulaire – sous pression de sélection de la plante, ii) illustré comment la ré-écriture d'un réseau de régulation originellement dédié à la virulence peut permettre d'évoluer vers un type d'interaction très différent et contribuer aux transitions écologiques, et iii) révélé l'existence d'un mécanisme de mutagénèse induite par l'environnement qui a vraisemblablement facilité la dissémination des caractères symbiotiques au sein des Protéobactéries dans la nature.

#### - Production scientifique et valorisation

- Marchetti *et al.* (2014). Shaping bacterial symbiosis with legumes by experimental evolution. Mol. Plant Microbe Interact. 27:956-964.
- Remigi et al. (2014). Transient Hypermutagenesis Accelerates the Evolution of Legume Endosymbionts following Horizontal Gene Transfer. PLoS Biology, 11(9).
- Marchetti *et al.* (2017). Experimental evolution of rhizobia may lead to either extra- or intracellular symbiotic adaptation depending on the selection regime. Molecular Ecology. 26:1818-1831.
- Capela *et al.* (2017). Recruitment of a lineage-specific virulence regulatory pathway promotes intracellular infection by a plant pathogen experimentally evolved into a legume symbiont. Mol. Biol Evol. doi: 10.1093/molbev/msx165.
- ▶ Remigi *et al.* (2016). Symbiosis within symbiosis: evolving nitrogen-fixing legume symbionts. *Trends Microbioly*, 24:63-75).



Nodule de *Mimosa pudica* infecté par une souche de *Ralstonia solanacearum* évoluée en symbiote de légumineuse. Crédit : M. Marchetti.

Le projet SHAPE est un projet de recherche fondamentale. Le projet a démarré en janvier 2013 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 308 735 €.

Partenaires: UMR LIPM (INRAE), Institut Pasteur (CNRS), Genoscope (CEA).

#### COORDINATRICE

Catherine Masson-Boivin: catherine.masson@inra.fr

#### **SymbioMaize**

## Diversification du maïs et symbiose associative avec la rhizobactérie *Pseudomonas kilonensis*

#### - Rappel des objectifs

La domestication des céréales a conduit à des améliorations agronomiques des plantes et à des modifications physiologiques (e.g. architecture racinaire, exsudation, etc). Ces modifications ont probablement été associées à des variations des mécanismes d'interactions avec les microorganismes du sol, mais ceci a été négligé. Dans le cadre du projet de SymbioMaize, notre objectif principal a été d'analyser l'impact de la domestication du maïs sur son métabolome et d'évaluer les conséquences potentielles sur ses interactions avec une bactérie phytobénéfique du sol.

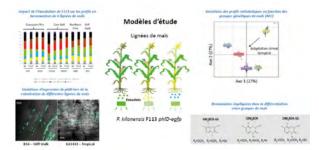
Le maïs provient de la domestication de la téosinte (Zea mays ssp. parviglumis) au Mexique il y a 9 000 ans. Au cours de la domestication, les agriculteurs ont sélectionné des sous-populations de maïs avec une grande variété de lignées classées en 5 groupes génétiques principaux (Tropical, Northern Flint, Corn Belt, Stilf Stalk, et European Flint). Nous avons étudié l'interaction de 15 lignées issues de ces 5 groupes, avec une bactérie phytobénéfique modèle (Pseudomonas kilonensis F113) inoculée sur les racines. Les lignées ont été cultivées en système expérimental en condition axénique. La composition chimique des exsudats récoltés et d'extraits végétaux racinaires a été analysée par chromatographie (HPLC-UV/QTOF). La capacité des métabolites produits par les lignées à induire l'expression de gènes bactériens phytobénéfiques (acdS pour la voie de l'éthylène végétal et phID pour la production d'un antimicrobien) a été suivie par des systèmes rapporteurs fluorescents. En parallèle, l'expression de ces gènes bactériens in planta a été analysée par micoscopie confocale. Les réponses développementales et métaboliques des lignées à l'inoculation en pot de la souche modèle et de mutants « pertes de fonction » dans les gènes bactériens phytobénéfiques acdS et phID ont été mesurées.

#### - Résultats du projet

Les profils en métabolites secondaires des lignées de maïs diffèrent entre groupes génétiques, le groupe Tropical étant le groupe le plus différent des autres groupes (Fig) suggérant que le processus de domestication/diversification a provoqué des changements physiologiques importants. Des benzoxazinoïdes sont impliqués dans la séparation des groupes entre eux sur l'Analyse Factorielle des Correspondances (Fig). Ces molécules de défense sont synthétisées par une grande diversité de Poaceae, lors de l'émergence du système racinaire. Elles jouent un rôle clé dans l'interaction du maïs avec le microbiote rhizosphérique. Certaines lignées de maïs (notamment du groupe Stiff Stalk et Northern Flint / groupe Tropical) sont capables d'induire plus fortement l'expression des gènes bactériens phID et/ou acdS et leur expression diffère significativement entre lignées (Fig). Enfin, l'inoculation de la souche modèle P. kilonensis.

F113 a un faible effet positif sur l'architecture racinaire et la croissance de certaines lignées de maïs testées (groupes European Flint, Corn Belt Northern et Stiff Stalk). Elle induit une modification des profils métaboliques des lignées de maïs et notamment des benzoxazinoïdes (Fig).

Ces résultats originaux suggèrent que la domestication du maïs et son adaptation aux conditions climatiques tempérées ont été accompagnées de changements physiologiques majeurs au niveau du métabolisme secondaire. Les composés de la famille des benzozaxinoïdes semblent avoir été des cibles de l'adaptation évolutive du maïs au climat tempéré, avec des implications sur la capacité des lignées de maïs à interagir avec les populations bactériennes



L'interaction des 15 lignées de ma $\bar{\text{i}}$ s issues de 5 groupes génétiques avec la bactérie *Pseudomonas kilonensis* F113 montre que :

- la composition en métabolites secondaires des lignées (en particulier benzozaxines) diffère en fonction des groupes génétiques (AFC);
   en lien avec ces différences, les lignées de maïs ne stimulent pas de la même
- en lien avec ces différences, les lignées de mais ne stimulent pas de la même façon l'expression de gènes phytobénéfiques chez F113 lorsque celle-ci leur est inoculée;
- l'inoculation de la souche F113 affecte le contenu en benzoxaxines des lignées de maïs, démontrant le rôle majeur de ces métabolites dans les interactions maïs-bactérie infecté par une souche de Ralstonia solanacearum évoluée en symbiote de légumineuse. Crédit: M. Marchetti.

rhizosphériques. Nos résultats pourraient être pour la sélection de variétés de maïs interagissant avec le rhizo-microbiote favorable. En particulier, nous proposons d'utiliser le profil des benzozaxines comme marqueurs de sélection de ces lignées de maïs.

#### — Production scientifique et valorisation

- ▶ Vacheron *et al.* (2013) Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. Front. Plant Sci. 4:356.
- Vacheron *et al.* (2016) Expression on roots and contribution to maize phytostimulation of 1-aminocyclopropane-1-decarboxy-late deaminase gene acdS in Pseudomonas fluorescens F113. Plant Soil. 407:187–202.
- ▶ Vacheron *et al.* (2016) Fluorescent Pseudomonas strains with only few plant-beneficial properties are favored in the maize rhizosphere. Front Plant Sci.7:1212.
- ▶ Vacheron *et al.* (2018) Differential contribution of plant-beneficial functions from Pseudomonas kilonensis F113 to root system architecture alterations in Arabidopsis thaliana and Zea mays. MPMI 31: 212–223.
- ▶ Besset-Manzoni *et al.* (2018) Exploiting rhizosphere microbial cooperation for developing sustainable agriculture strategies. ESPR 25:29953–29970.

Sept communications orales dans des congrès internationaux dont une sur invitation. Deux communications orales dans des universités étrangères sur invitation. Deux communications orales dans des congrès nationaux.

Le projet SymbioMaize est un projet Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a débuté en janvier 2013 et a duré 54 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 149 999 €

Partenaires : Laboratoire d'Ecologie Microbienne (EM) (Université de Lyon).

#### COORDINATRICE

Claire Prigent-Combaret :

claire.prigent-combaret@univ-lyon1.fr

**SYMNALING** 

## Mécanismes de signalisation entre les légumineuses et leurs microorganismes bénéfiques

#### - Rappel des objectifs

Les bactéries Rhizobia et les champignons mycorhiziens à arbuscules (AM) produisent des signaux chimiques de nature Lipo-chitooligosaccharidique (LCO) lors du développement de leur association symbiotique avec les plantes. Les récepteurs de plantes et leurs protéines en interaction sont nécessaires à la réponse aux LCOs et à l'établissement des deux symbioses. À l'aide de la légumineuse *Medicago truncatula*, le projet vise à déterminer la composition et la régulation des complexes de récepteurs de plantes mis en jeu dans la signalisation symbiotique associée à la perception des LCOs. Le projet utilise une combinaison d'approches moléculaire, génétique, biochimique, cytologique et protéomique pour atteindre ces objectifs.

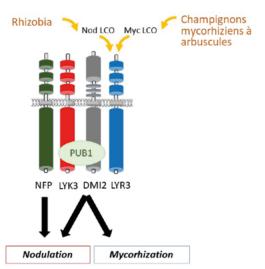
#### - Résultats du projet

Chez Medicago truncatula les récepteurs symbiotiques connus sont NFP, LYK3 et DMI2. NFP et LYK3 sont essentiels pour le développement de la symbiose avec Rhizobium et DMI2, pour les deux symbioses. Durant ce projet il a été montré que DMI2 et LYK3 interagissent et phosphorylent l'ubiquitine E3 ligase, PUB1, qui régule négativement la mycorhization et la nodulation. Un nouveau récepteur, LYR3, a été identifié. Il reconnaît les LCOs et interagit avec LYK3. Ce travail suggère des similitudes et des spécificités dans la régulation des récepteurs impliqués dans les deux symbioses. Il contribue à notre compréhension des mécanismes moléculaires par lesquels les LCOs et les symbioses améliorent la nutrition et la croissance des plantes et réduisent l'utilisation des engrais chimiques.

#### Production scientifique et valorisation

Revues à comité de lecture :

- Fliegmann J. et al. (2013).Lipo-chitooligosaccharidic symbiotic signals are recognized by LysM receptor-like kinase LYR3 in the legume *Medicago truncatula*. ACS Chem Biol. 8: 1900-1906.
- Fliegmann J. et Bono J.J. (2015). Lipo-chitooligosaccharide nodulation factors and their perception by plant receptors. Glycobiology J. 32: 455-464.
- ▶ Vernié T. et al. (2016). PUB1 interacts with the receptor kinase DMI2 and negatively regulates rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses through its ubiquitination activity in *Medicago truncatula*. *Plant Physiol.*, 170: 2312-2324.
- Malkov N. *et al.* (2016). Molecular basis of lipo-chitooligo-saccharide recognition by the lysin motif receptor-like kinase LYR3 in legumes. Biochem J., 473: 1369-1378.
- Fliegmann J. et al. (2016). LYR3, a high-affinity LCO-binding protein of *Medicago truncatula*, interacts with LYK3, a key symbiotic receptor. FEBS Letts, 590: 1477-1487.



Modèle de perception des signaux symbiotiques chez Medicago truncatula. Représentation d'un complexe de récepteurs impliqués dans la perception des signaux symbiotiques (les LCO) produits par les bactéries rhizobia et/ou les champignons mycorhiziens à arbuscules.

Le projet SYMNALING est un projet Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a débuté en septembre 2012 et a duré 36 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 380 000 €.

Partenaire: UMR LIPM (INRAE).

#### COORDINATRICE

Julie Cullimore: julie.cullimore@inra.fr

#### **UNLOCKP**

Mobilisation des réserves de Phytate du sol : quelles sont les clefs nécessaires pour accéder au phosphore de ce trésor ?

#### - Rappel des objectifs

Le phytate (myo-inositol-hexaphosphate) est une forme de Phosphore (P) organique particulièrement abondante dans le sol et les effluents issus de l'agriculture. Cependant, les plantes ne secrètent pas les enzymes nécessaires à la minéralisation du phytate, contrairement aux micro-organismes du sol. Augmenter la capacité d'utilisation du P du phytate par les plantes représente donc une réponse possible à la « crise » agricole du P minéral annoncée au 21e siècle. UNLOCKP visait une meilleure utilisation du phytate du sol par les plantes, en explorant les capacités d'hydrolyse du phytate par différentes phytases recombinantes (deux phytases acides fongiques versus une phytase alcaline bactérienne), et en quantifiant les effets de l'inoculation de différents mutualistes potentiellement capables d'améliorer la nutrition phosphatée d'une espèce ligneuse, le Pin maritime. Les espèces mutualistes apportées étaient (i) un symbiote ectomycorhizien, (ii) des bactéries minéralisatrices de phytate et (iii) des nématodes bactérivores. Le projet visait également à définir des méthodes de suivi de l'hydrolyse du phytate en conditions de sol, dont la production d'une molécule de phytate portant un radical fluorescent.

#### - Résultats du projet

UNLOCKP a permis la synthèse *de novo* d'un nouveau substrat fluorescent, utilisé comme le phytate non fluorescent par les deux phytases recombinantes fongiques (issues d'*Aspergillus niger* et d'une levure *Debaryomyces castellii*) et bactérienne (de *Bacillus subtilis*), rendant cette molécule prometteuse pour suivre la dégradation du phytate *in situ*. La présence de sol n'a pas perturbé l'activité catalytique de ces trois enzymes, suggérant qu'elles minéralisent effectivement le phytate en conditions de sol.

La culture des plantes a été réalisée en microcosme avec deux sources de P (phosphate (Pi) ou phytate) sur agarose ou sur sol très fixateur de P. La figure 1 montre clairement que l'augmentation du nombre de mutualistes (champignon ectomycorhizien, bactéries minéralisatrices de phytate, nématodes bactérivores) est indispensable pour que la plante puisse utiliser le P du phytate en condition de sol. Ces résultats démontrent l'efficacité des combinaisons de mutualistes et des relations trophiques dans des conditions de sol, en particulier lorsqu'ils sont très fixateurs vis-à-vis du P. Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives en agroécologie sur l'utilisation raisonnée des inoculants bactériens (bio-fertilisants) qui doivent être combinés pour maximiser leurs effets bénéfiques sur la nutrition en P de la plante, particulièrement en conditions de sol très pauvre en P disponible.

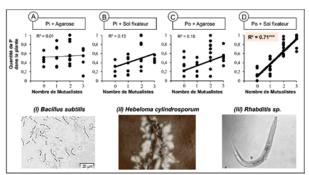
#### Production scientifique et valorisation

#### Article paru:

▶ Becquer A. *et al.* (2014). From soil to plant, the outward journey of P through trophic relationships and ectomycorrhizal association. Frontiers in Plant Science, 5(548). doi:10.3389/fpls.2014.00548.

#### Articles en préparation :

Dussouy C. *et al.* Phytate-dansyl, a new fluorescent substrate, is used by HAP and BPP phytases and enable to follow phytate hydrolysis in soil.



Relation entre le nombre de mutualistes (Bacillus subtilis, Hebeloma cylindrosporum, Rhabditis sp.) dans la rhizosphère et la nutrition P (normalisée en 0 et 1)\* de la plante pour quatre situations expérimentales. (A) Dans un milieu d'agarose enrichi en ions phosphates (Pi), aucune relation n'est observée. (B) Dans un sol acide fixateur vis-à-vis du Pi et enrichie en Pi ou (C) dans un milieu d'agarose enrichi en phytate, le prélèvement du P par la plante augmente, mais non significativement, avec le nombre de mutualistes inoculés. (D) Dans un sol enrichi en phytate, l'augmentation du nombre de mutualistes inoculés conduit à une forte augmentation du P prélevé par la plante, avec une pente qui devient significativement différente de zéro. (i) photographie de cellules bactériennes Bacillus subtilis, productrice de phytases. (ii) photographie d'Hebeloma cylindrosporum, basidiomycète ectormycorhizien de couleur blanche, formant un manchon fongique bien visible autour des racines du Pin maritime. De plus, on peut voir que le mycelium extra-radiculaire explore le sol au-delà de la rhizosphère. (iii) photographie du nématode bactérivore du genre Rhabditis (Rhabditidae). Crédits photo : (i) U. Irshad, (ii) C. Plassard, (iii) J. Trap. "Normalisation homothétique réalisée pour chaque situation expérimentale à l'aide de la formule suivante Y = 0,1 + ((X – m)/(M – m)) × 0,9 ; avec « Y » la quantité de P dans la plante normalisée, m valeur minimale observée, M la valeur maximum observée.

- Le Guernevé C. *et al.* Two-dimensional <sup>31</sup> PNMR (2D-DOSY) as a suitable tool to follow phytate hydrolysis in soil through trophic relationships.
- Lecadre E. et al. Factors governing phytase activities in soil.
- Ranaorisoa P. *et al.* Do trophic relationships and mycorrhizal symbiosis in high P-adsorbing soil improve plant P acquisition from an organic P source? Phytate as a particular case.
- Jaillard B. *et al.* Modeling the phytate use by plants in soil.
- ► Trap J. *et al*. Environmental shifts alter soil biodiversity-plant function relationships in the rhizosphere of *Pinus pinaster*.

Six conférences/séminaires dans des congrès nationaux ou internationaux.

#### Vulgarisation:

Unlock-P: Unlocking the untapped potential of phosphorus (2013). International Innovation, www.researchmedia.eu The missing link? (2014) Pan European Networks: Science and Technology, vol 12: page 227.

Le projet UNLOCKP est un projet Jeunes Chercheurs, Jeunes Chercheuses de recherche fondamentale. Le projet a débuté en décembre 2011 et a duré 42 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 330 000 €.

Partenaires: UMR Eco&Sols (INRAE).

#### COORDINATRICE

Claude Plassard: claude.plassard@inra.fr

#### WHEATSYM

Rôles des signaux microbiens CO/LCO et de leurs récepteurs de plantes dans des interactions bénéfiques entre monocotylédones et microorganismes du sol

#### - Rappel des objectifs

La plupart des plantes établit la symbiose mycorhizienne à arbuscules (SMA) qui permet un meilleur accès aux nutriments du sol. La mise en place de cette symbiose requiert l'activation d'une voie de signalisation chez la plante hôte. Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) produisent des lipo-chitooligosaccharides (LCO) et des chitooligosaccharides (CO) courts capables d'activer cette voie de signalisation, suggérant que ces signaux sont redondants pour la mise en place de la SMA. Les LCO ont par ailleurs un effet développemental sur le système racinaire des plantes y compris chez les graminées. Ils sont utilisés en agriculture pour promouvoir la croissance des plantes. Des récepteurs de LCO ont été identifiés chez plusieurs plantes mais les récepteurs de CO courts sont encore inconnus. Les objectifs du projet sont : 1/ identifier les récepteurs de LCO et CO chez la graminée modèle Brachypodium distachyon; 2/ déterminer leur rôle dans la mise en place de la SMA et leur capacité à percevoir des bactéries de type rhizobia (qui produisent aussi des LCO, essentiels pour la mise en place de la symbiose fixatrice d'azote chez la plupart des légumineuses); 3/ déterminer si la surexpression de ces récepteurs affecte la capacité du blé à répondre aux LCO et à interagir avec des CMA et des rhizobia.

#### - Production scientifique et valorisation

▶ Buendia L. et al. (2018). LCOs promote lateral root formation and modify auxin homeostasis in Brachypodium distachyon. New Phytologist 221: 2190-2202.

Le projet WHEATSYM est un projet de recherche collaborative public-privé (PRCE : Projet de Recherche Collaborative-Entreprises). Le projet a débuté en janvier 2017 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'une aide ANR de 415 151 €.

Partenaire: UMR LIPM (INRAE), Entreprise Biogemma.

#### COORDINATEUR

Benoit Lefebvre: benoit.lefebvre@inra.fr





Culture de blé in vitro (en haut) et en serre (en bas) pour mesurer des réponses aux signaux symbiotiques et aux micro-organismes bénéfiques

#### La collection des Cahiers de l'ANR comporte douze numéros, tous disponibles sur le site de l'ANR : www.anr.fr



N°1 - JUIN 2009 Mobilité et ubiquité : vers le nomadisme numérique



**Environnement et** changements globaux: des aléas à la vulnérabilité des sociétés

N°7 - AVRIL 2013



**N°2 - JUILLET 2010** L'énergie partagée : une vision nouvelle de l'habitat, de la voiture et du territoire



Émergence de l'agroécologie et perspectives pour le futur Les programmes ADD-SYSTERRA-AGROBIOSPHÈRE

N°8 - SEPTEMBRE 2015



**N°3 - JANVIER 2010** Le calcul intensif: technologie clé pour le futur



N°9 - NOVEMBRE 2016 Infrastructures matérielles et logicielles (réseaux de communication, traitement et stockage) pour la société numérique



Intelligence artificielle et robotique : « Confluences de l'Homme et des STIC »

N°4 - MARS 2012



Risques et catastrophes naturels

**N°10 - OCTOBRE 2019** 



Bilan des projets financés sur la période 2010-2018



**N°5 - JUILLET 2012** Les nanotechnologies : un nouveau paradigme



**N°11 - DÉCEMBRE 2019** Arbre, bois, forêt et sociétés Projets financés sur la période

2010-2018





Les apports de la génomique à l'agroécologie

N°12 - SEPTEMBRE 2020





N°6 - DÉCEMBRE 2012 **Contaminants** 

et environnements: constater, diffuser, décider









www.anr.fr - www.anr.fr/en