



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

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'agroécologie 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

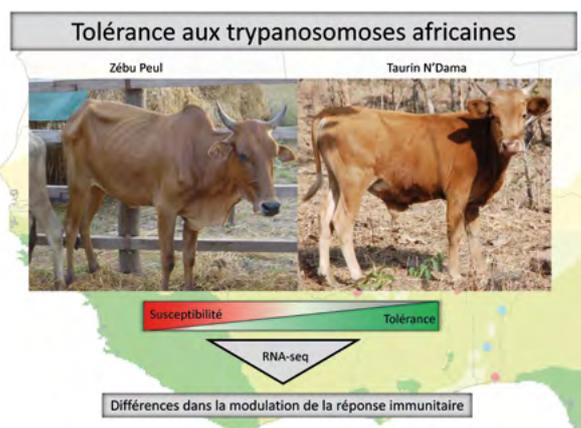
— Rappel des objectifs

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 différemment 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, figure par Sophie Thévenon.

— Production scientifique et valorisation

Publication :

- 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>

Conférences :

- 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 labex 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 corrélérer 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. congregata*, 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* (Hyménoptera, 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 nymphe de *C. typhae* dont les larves sont sorties de la chenille pour se nymphoser (crédit : L. Kaiser, CNRS) ; *Hyposoter dydimator* (Hyménoptera, Ichneumonidae), adulte, et à droite, cocon de nymphe 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.

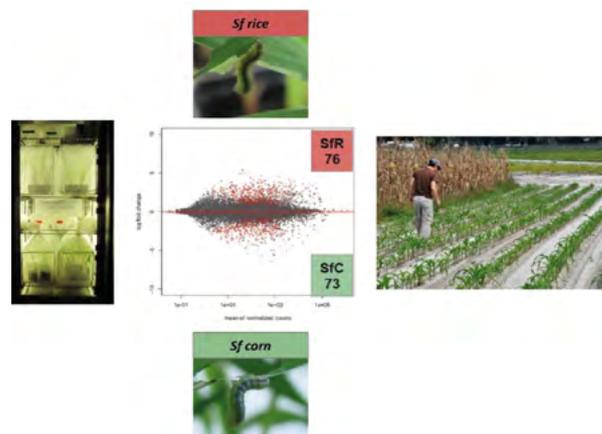
— Résultats du projet

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 différenciation 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/evl015. <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 URGII(INRAE), UMR IRISA (INRIA), UMR CBGP (INRAE).

COORDINATRICE

Emmanuelle d'Alençon : 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 (Khayati 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 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 (Khayati et al. 2016b, Khayati 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 Barny.

- ▶ 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 peruvienne*" strains isolated from fresh water in France. Stand Genomic Sci. 2018; 13: 27.
- ▶ Khayati 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.
- ▶ Khayati et al. (2016b) Complete genome anatomy of the emerging potato pathogen *Dickeya solani* strain IPO2222T. Standards in Genomic Sciences 11:87.
- ▶ Khayati 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.
- ▶ Khayati 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 I2BC (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

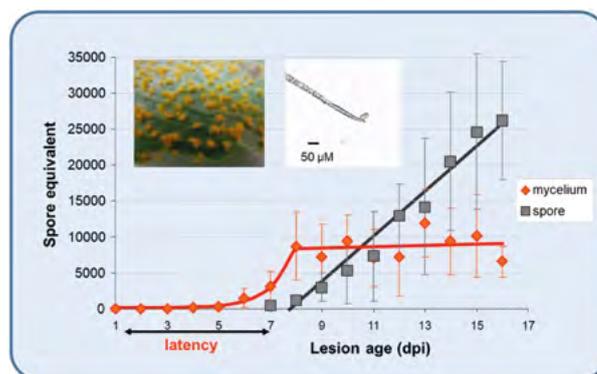
Les champignons constituent un groupe d'organismes extraordinairement divers. Malgré leur rôle écologique majeur, cette diversité a jusqu'à présent été un frein dans la conceptualisation de leurs stratégies de vie. L'objectif du projet FunFit a été d'appliquer les concepts développés en biologie et en 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 issus 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 entraîne un investissement plus fort dans la croissance mycélienne, au détriment de la sporulation du champignon. Enfin, nous avons montré qu'une différenciation 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.



Validation expérimentale du modèle de dynamique d'infection optimale chez 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, 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'oomycte (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 répandus 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, *Lep-tosphaeria 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 1^{er} 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

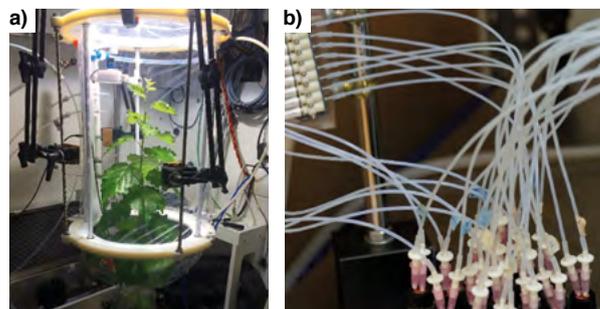
La végétation terrestre libère une grande diversité de composés organiques volatils qui forment des environnements odorants complexes et jouent un rôle majeur de signalisation dans les interactions entre organismes. Les insectes, notamment, extraient de ces paysages sensoriels (ou odorscapes) des signaux 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 Volatils 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? 18^e colloque Biologie de l'Insecte. Tours, France, June 27-29. Présentation orale.



a) Collecte dynamique des émissions 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.). 4^{es} 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. Présentation orale.
- 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 ODORSCAPE est un projet de recherche fondamentale. Le projet a débuté en novembre 2015 et a duré 48 mois. Il 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

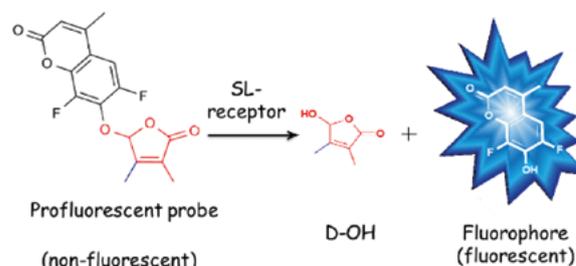
Un des résultats majeurs du projet est la découverte d'un mécanisme nouveau et original de perception d'une hormone grâce au développement de sondes profluorescentes. Nous avons démontré que le récepteur des SL des plantes vasculaires, une α/β -hydrolase, génère lui-même par réaction enzymatique irréversible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

L'analyse et l'accroissement de la diversité biologique dans les agroécosystèmes et l'évaluation de son incidence sur la performance et la durabilité des cultures

AdaptInWild	p. 44
ChickStress	p. 45
DeCoD	p. 46
FLAG	p. 47
HerbiFun	p. 48
MeCC	p. 49
miPEPiTO	p. 50
PHEROTOX	p. 51
PRAISE	p. 52
REGULEG	p. 53
SecPriMe²	p. 54

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

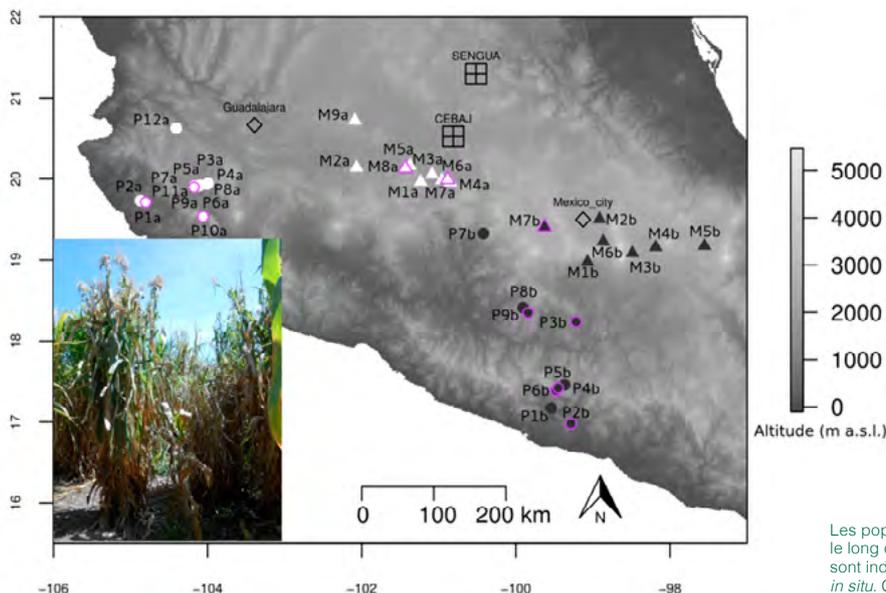
- Fustier M-A., *et al.* (2019). Common gardens in teosintes reveal the establishment of a syndrome of adaptation to altitude. *PLoS Genetics*. 15(12):e1008512.
- Fustier M-A. *et al.* (2017). Signatures of local adaptation in lowland and highland teosintes from whole genome sequencing of pooled samples. *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



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 accroît 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 stresser 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

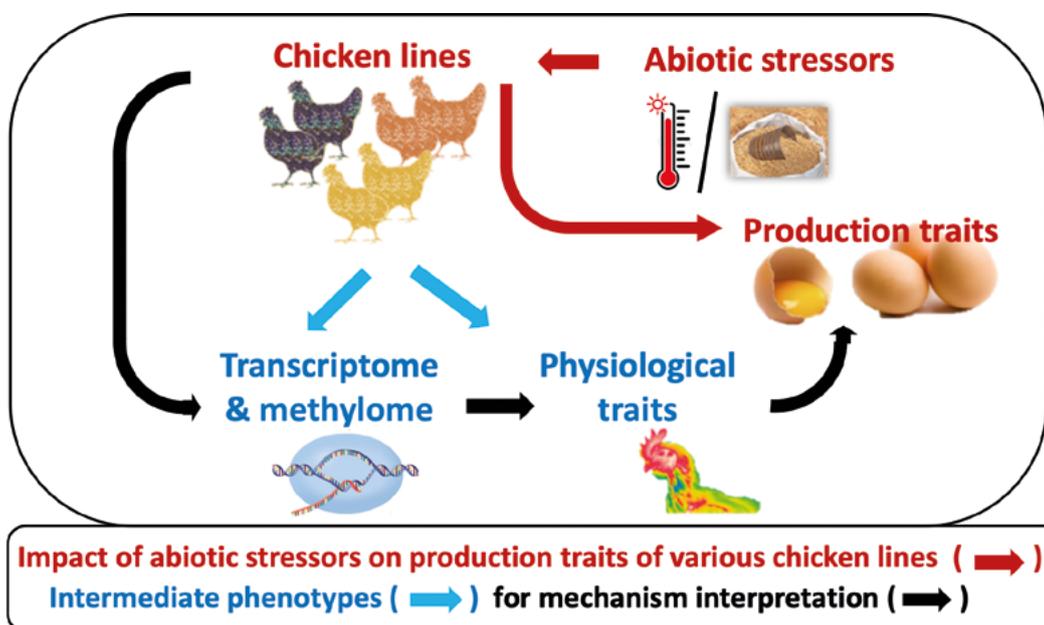
- Muret K. *et al.* (2017). *Long noncoding RNA repertoire in chicken liver and adipose tissue*. Genetics Selection Evolution. Jan 10;49(1):6.
- Brenet *et al.* (2017). *Phenotype and multi-tissue transcriptome response to diet changes in laying hens.*, ISAG Dublin juillet 2017
- Jehl *et al.* (2017) *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 sept. 2018.
- 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 1^{er} 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 Lagarrigue :
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

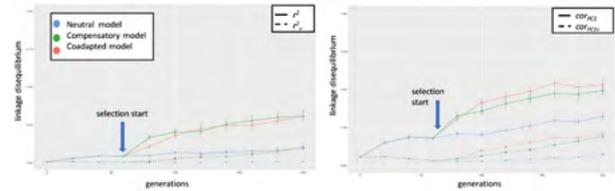
Le changement climatique menace la sécurité alimentaire à l'échelle mondiale. Une stratégie reconnue est de développer des ressources génétiques capables de faire face aux conditions locales abiotiques et biotiques. La sélection assistée par marqueurs (SAM) permet d'intégrer des gènes de l'adaptation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

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...).

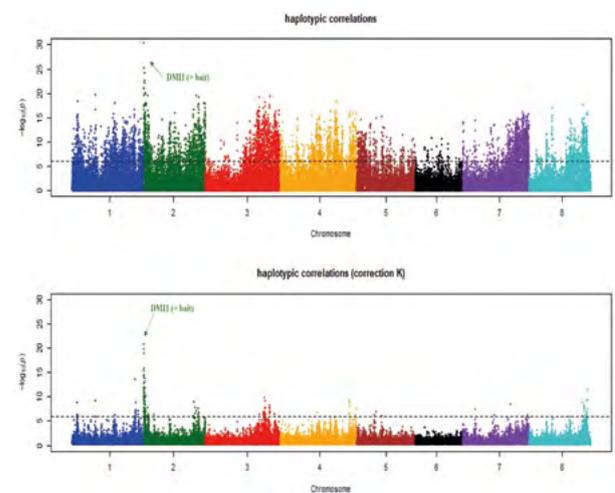
Medicago truncatula est une légumineuse modèle pour l'étude des interactions entre les plantes et les microorganismes (Bonhomme *et al.* 2014, *New Phytol*; Bonhomme *et al.* 2015, *Mol Biol Evol*). La cartographie par génétique d'association est puissante, très résolutive et permet de tester d'éventuelles 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

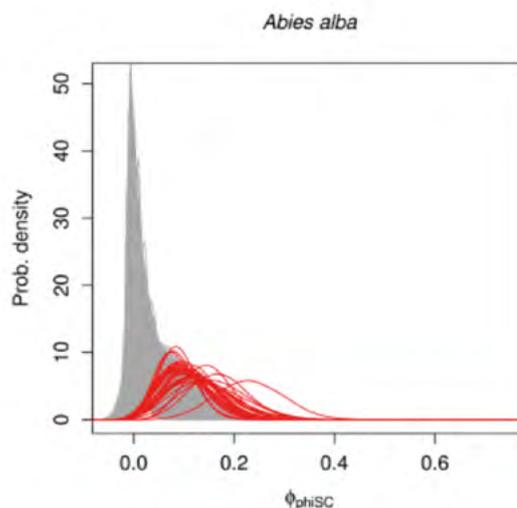
Le projet FLAG visait à la détection et à l'analyse des patrons génomiques de l'adaptation microgéographique chez les arbres forestiers. L'adaptation microgéographique est un phénomène par lequel des populations de plantes s'adaptent à des variations de conditions environnementales très localisées, souvent 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 sous-groupes 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 présente, 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 débouchés 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 sauvages.



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-temporal 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 €.

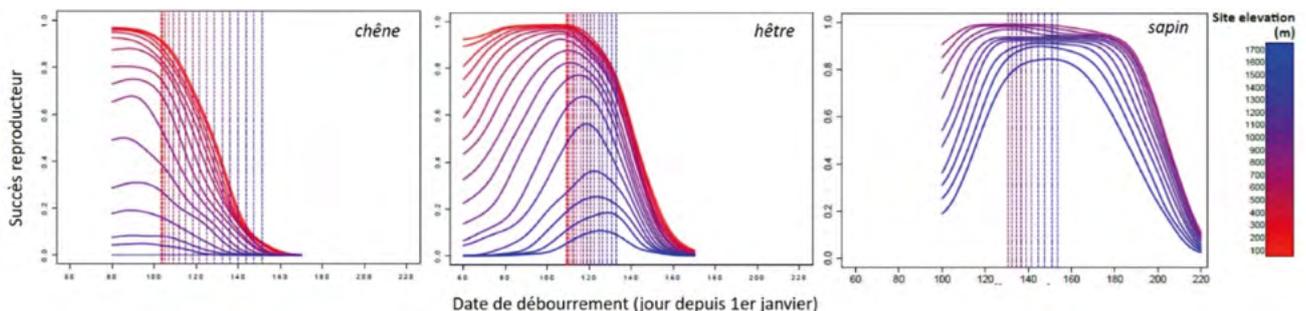
Partenaires : UMR CEFE (CNRS) - UMR ISEM (Université de Montpellier), UMR BIOGECO (INRAE), UR Ecologie des forêts méditerranéennes (INRAE), UR Biostatistique et processus spatiaux (INRAE).

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 Gaves par le modèle PHENOFIT (Gauzere 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 transcrite 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* ;
- et,
- ▶ 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.

— Résultats du projet

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 tests *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 neurophysiologique.

— 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 déjà perçue.

— 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* 283, 1824.
- 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

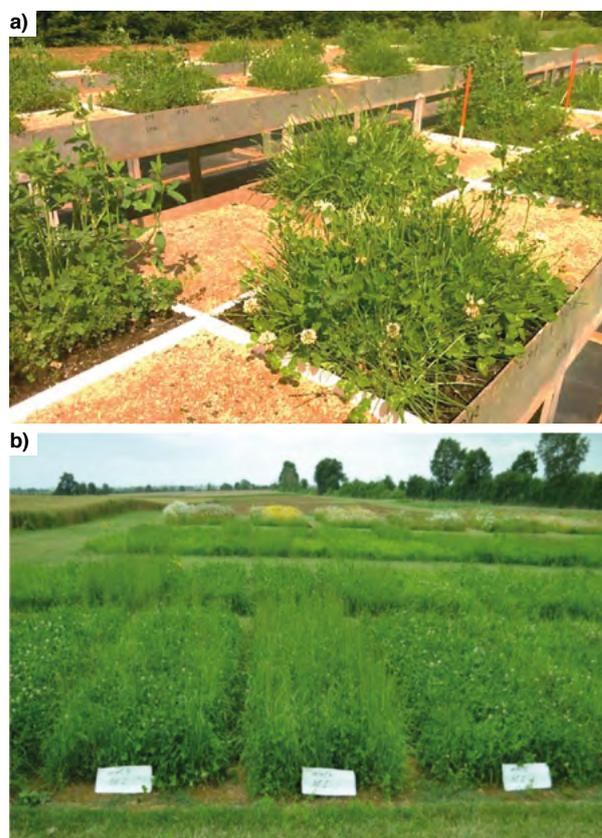
Alors que la diversité est un paramètre important des capacités de résilience des systèmes, la diversité présente au sein des cultures est relativement réduite. Promouvoir la diversité génétique et spécifique des cultures permettrait de faire face aux aléas climatiques, telle est l'hypothèse de travail 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 multisécifiques 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

SecPriMe²

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

— Rappel des objectifs

Le programme SecPriMe² 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 sécheresse, 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 écophysiologicals et fonctionnelles

Le système d'exclusion de pluie de la plateforme expérimentale de l'O₃HP 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'O₃HP : Système d'exclusion de pluie déployé sur la forêt de chênes pubescents permettant de simuler l'aggravation de la sécheresse 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 CEREGE (ex-GSE) (INRAE).

COORDINATRICE

Catherine Fernandez : catherine.fernandez@imbe.fr

A detailed microscopic image showing plant roots and soil microorganisms. The roots are stained in shades of green and yellow, revealing their intricate branching structure. The surrounding soil is dark and contains numerous small, spherical microorganisms, some of which appear to be interacting with the root surfaces. The overall scene is illuminated with a mix of green and yellow light, highlighting the biological activity.

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 séquençé 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

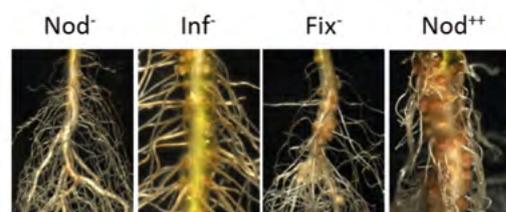
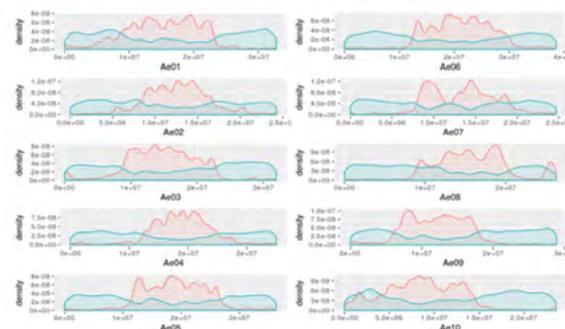
Comprendre les mécanismes de la symbiose facteurs Nod-indépendante



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 19^e 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 *phlD* 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.

— Production scientifique et valorisation

Publications :

- 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>

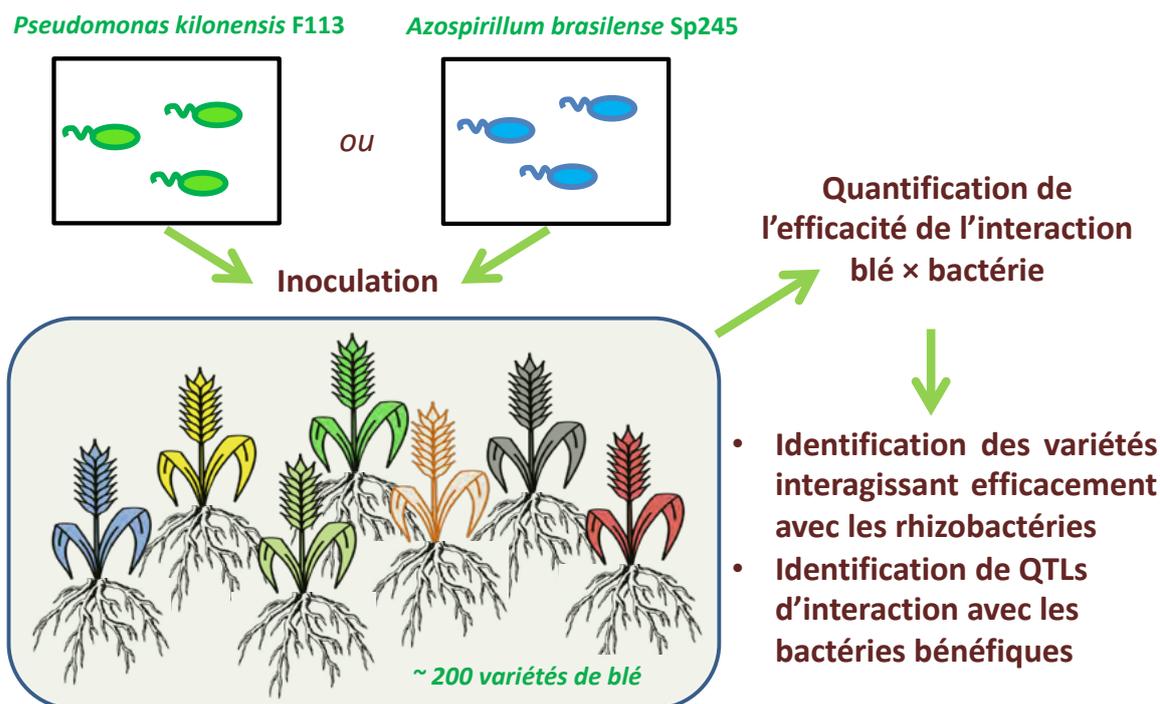
4 conférences dans des réunions internationales.

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 Moëgne-Loccoz : yvan.moenne-locco@univ-lyon1.fr



Principe de criblage des 200 variétés de blé, sur la base de leur capacité d'interaction avec des bactéries bénéfiques.
Crédit photo : Yvan Moëgne-Loccoz.

EPISYM

Régulations épigénétiques du développement des nodosités symbiotiques chez les légumineuses

— Rappel des objectifs

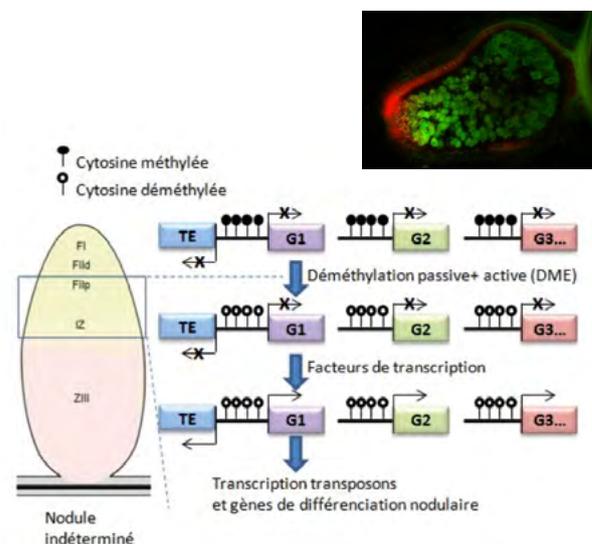
Le projet EPISYM cherche à comprendre le rôle des régulations épigénétiques dans les reprogrammations transcriptomiques qui accompagnent le développement des nodosités fixatrices d'azote lors de l'interaction symbiotique Rhizobium-Légumineuses. Nous étudierons chez la légumineuse modèle *Medicago truncatula* 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 (Pécricx *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 *MtDME* 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 bactéroïdes 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 (FIld), une zone de différenciation (FIlp), une interzone II-III (IZ, correspondant aux événements 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 FIld.) et une hypométhylation dans les zones de différenciation (FIlp 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 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.
- ▶ Pécricx 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/recherche/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.

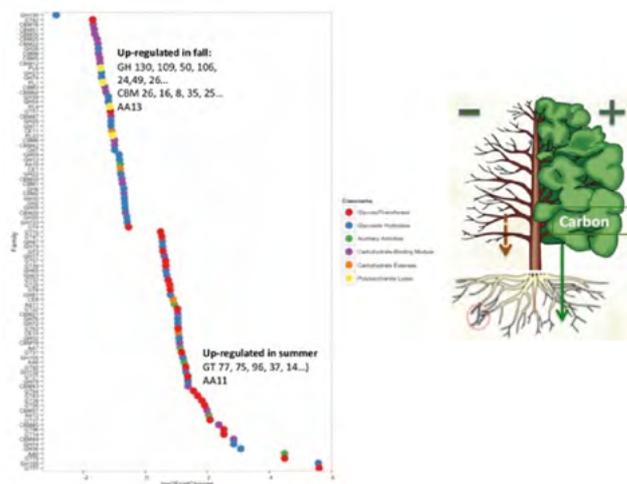
Eumetasol se proposait ainsi d'évaluer la diversité tant taxonomique que fonctionnelle de ces organismes du sol ainsi que d'évaluer l'impact de différents facteurs environnementaux sur cette diversité. Nous avons ainsi exploré par différentes approches les métatranscriptomes eucaryotes de sols prélevés 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 (feuillu versus conifères) a un fort impact sur les communautés fongiques ainsi que sur la diversité des gènes lignocellulolytiques qu'elles expriment.

L'approche métatranscriptomique apparaît 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 glycosylhydrolases, glycosyltransférases et lyases, observée sur le site de Breuil (hêtre). 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 Fourier), 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

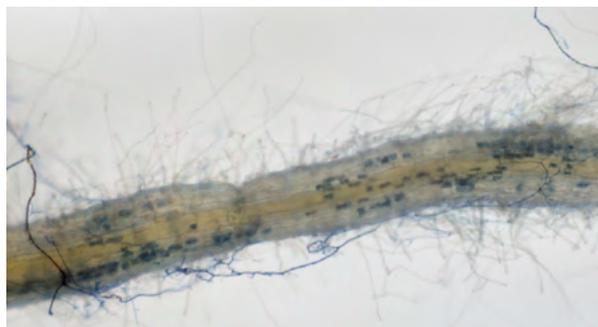
Il existe chez les plantes capables d'établir la symbiose mycorhizienne à arbuscules (SMA) et/ou avec des bactéries fixatrices d'azote de type Rhizobium, une voie de signalisation requise pour la colonisation des racines par ces microorganismes bénéfiques. Des lipo-chitooligosaccharides (LCO) sécrétés 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.

— Résultats du projet

Non publiés.

— Production scientifique et valorisation

Communications lors de congrès internationaux :

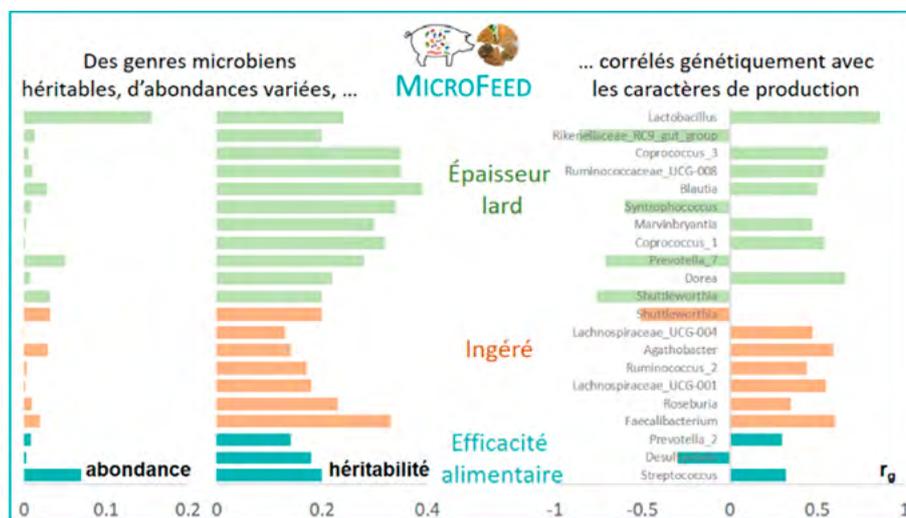
- Déru V. *et al.* Genetics of digestive efficiency in growing pigs fed a conventional or a fiber-rich diet. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, soumis.
- Aliakbari A. *et al.* (2019). Reliability of the genomic predictions for the feed efficiency related trait based on different pig lines. Presented 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



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.

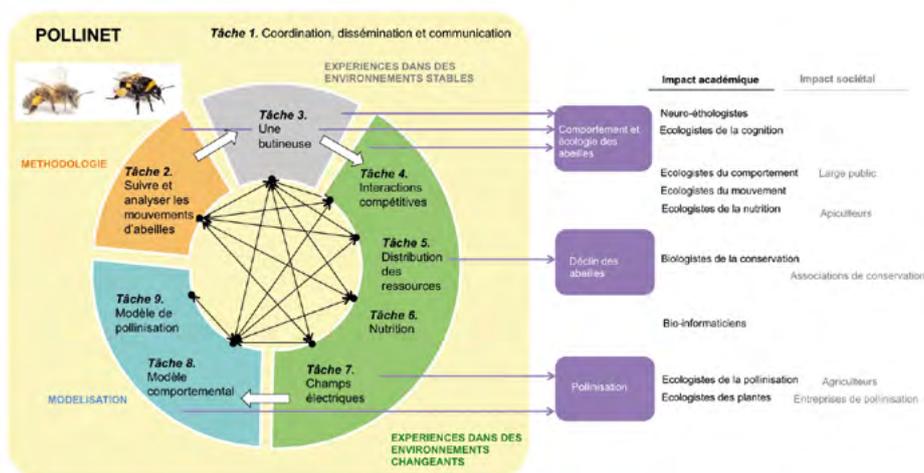
L'objectif de POLLINET est de développer une analyse à plusieurs échelles des systèmes plantes-pollinisateurs en disséquant les stratégies de butinage des abeilles, en identifiant leur impact sur la reproduction des plantes et en déterminant comment ces effets varient en réponse à des perturbations environnementales. 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.



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

Résumé graphique de POLLINET.



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 (Das-sault 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

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'accroître 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 Fix- au cours du processus infectieux.

Environ 20 jours après l'inoculation, les bactéries Fix- et les cellules du nodule qui les hébergent dégèrent 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

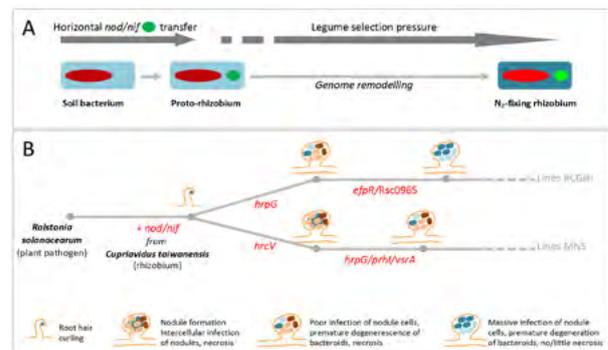


Figure. Evolution of Nod-rhizobia.

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 *Ralstonia*. The evolution of a Nod-rhizobium 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 Biol.* 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 Génétique 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 mutagenèse 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 Microbiol.* 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

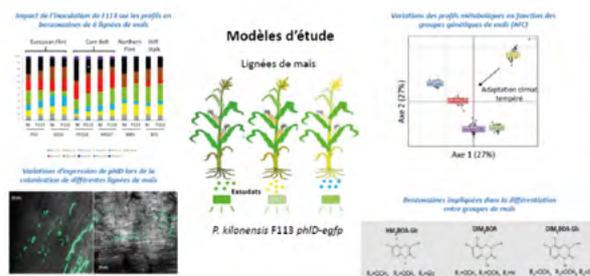
La domestication des céréales a conduit à des améliorations agronomiques des plantes et à des modifications physiologiques (e.g. architecture racinaire, exsudation, etc). Ces modifications ont probablement été associées à des variations des mécanismes d'interactions avec les microorganismes du sol, mais 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 phyto-bénéfique 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, Stiff Stalk, et European Flint). Nous avons étudié l'interaction de 15 lignées issues de ces 5 groupes, avec une bactérie phyto-bénéfique 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 phyto-bénéfiques (*acdS* pour la voie de l'éthylène végétal et *phlD* 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 microscopie 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 phyto-bénéfiques *acdS* et *phlD* 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 *phlD* 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 benzoxazinoïdes 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 maïs issues de 5 groupes génétiques avec la bactérie *Pseudomonas kilonensis* F113 montre que :
 - la composition en métabolites secondaires des lignées (en particulier benzoxaxines) diffère en fonction des groupes génétiques (AFC) ;
 - en lien avec ces différences, les lignées de maïs ne stimulent pas de la même façon l'expression de gènes phyto-bénéfiques 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 benzoxaxines 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-decarboxylate 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-chitoooligosaccharidique (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, cytotologique et protéomique pour atteindre ces objectifs.

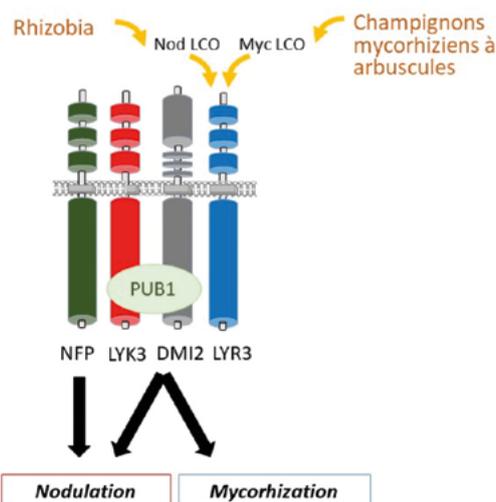
— Résultats du projet

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

Revue à comité de lecture :

- Fliegmann J. *et al.* (2013). Lipo-chitoooligosaccharidic 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-chitoooligosaccharide 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-chitoooligosaccharide 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 clés 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 21^e 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.

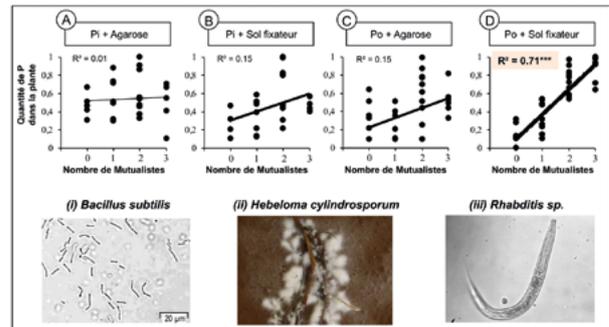
— Production scientifique et valorisation

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 de Pi et enrichi en Pi ou (C) dans un milieu d'agarose enrichi en phytate, le prélèvement de 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 ectomycorhizien de couleur blanche, formant un manchon fongique bien visible autour des racines du Pin maritime. De plus, on peut voir que le mycélium extra-radicalaire explore le sol au-delà de la rhizosphère. (iii) photographie du nématode bactériophage 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 $Y = 0,1 + ((X - m)/(M - m)) \times 0,9$; avec « Y » la quantité de P dans la plante normalisée, « X » la quantité de P dans la plante non normalisée, m valeur minimale observée, M la valeur maximum observée.

- Le Guernevé C. *et al.* Two-dimensional ³¹P NMR (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-chitoooligosaccharides (LCO) et des chitoooligosaccharides (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



N°7 - AVRIL 2013

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



N°2 - JUILLET 2010

L'énergie partagée :
une vision nouvelle
de l'habitat, de la voiture
et du territoire



N°8 - SEPTEMBRE 2015

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



N°3 - JANVIER 2010

Le calcul intensif :
technologie clé pour le futur



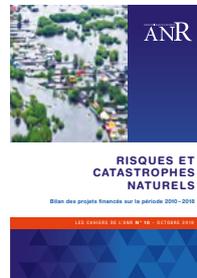
N°9 - NOVEMBRE 2016

**Infrastructures matérielles
et logicielles** (réseaux de
communication, traitement
et stockage) pour la société
numérique



N°4 - MARS 2012

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



N°10 - OCTOBRE 2019

**Risques et catastrophes
naturels**
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



N°6 - DÉCEMBRE 2012

**Contaminants
et environnements :**
constater, diffuser,
décider



N°12 - SEPTEMBRE 2020

**Les apports de la génomique
à l'agroécologie**
Bilan des projets financés
sur la période 2005-2019 et
perspectives pour la recherche

Conception et coordination éditoriale :

Isabelle Hippolyte et Jannatul Mia en collaboration avec
la Direction de l'Information et de la Communication

Conception et réalisation graphique :

www.ba-ba.fr

Crédits photos :

Adobe Stock

« Gratuit ne peut être vendu »



Nous suivre sur :  @agencerecherche  ANR

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