

Centre
Pays de la Loire

INRAE



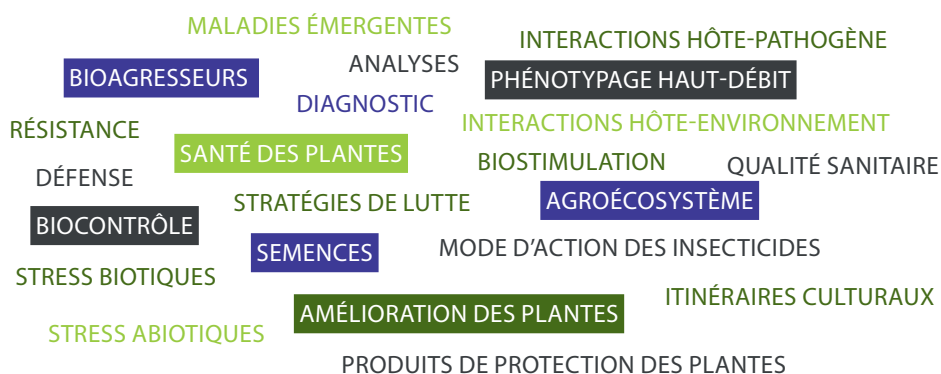
Une sélection de nos résultats de recherche
sur la santé des plantes
(pommier, carotte, rosier, semences...)

En partenariat avec

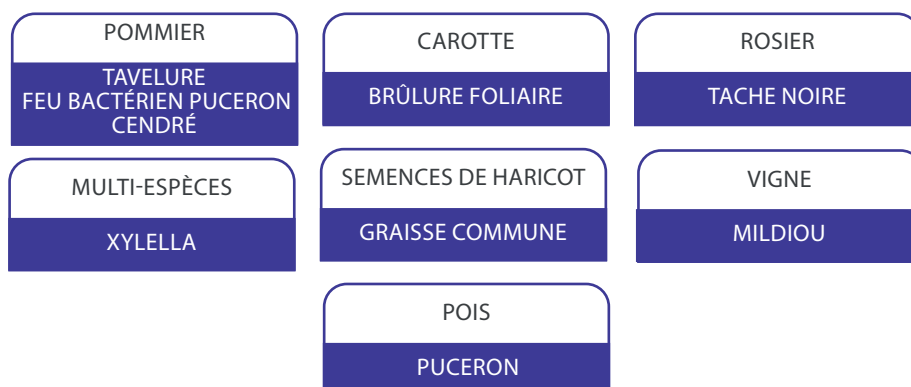


Compétences et thèmes de recherche du centre INRAE Pays de la Loire

Pour répondre aux enjeux de la santé des plantes, des approches de biologie intégrative mobilisent des expertises en génétique, phytopathologie, physiologie, biochimie, bioinformatique, statistiques, modélisation... au service de l'étude des :



Focus sur des modèles d'étude



Une sélection des résultats de recherche du centre sur la santé des plantes

Interactions plantes / bioagresseurs

p 4

Un nouveau scénario d'émergence de virulence dans les vergers
Des pyramides contre la tavelure du pommier ?
Résistance à la tavelure du pommier
Contrôle génétique de la tavelure : éphémère ou durable ?
Résistance du poirier à la tavelure et au psylle
Identification d'un promoteur de pommier activé spécifiquement par une attaque de feu bactérien
Emergence de *Xylella* en France
Apparition de nouvelles bactéries pathogènes sur plantes
Trafic d'armes chez les bactéries phytopathogènes
Bactéries pathogènes et non-pathogènes, une différence parfois ténue
Voies de transmission de *Xanthomonas* aux semences
Infection par des souches de *Xanthomonas* responsables de la graisse commune du haricot
Un dilemme pour les graines : se développer ou se défendre ?
Adaptation d'*Alternaria* à la phase de dessiccation des semences
Transmission d'agents phytopathogènes à la semence
Microbiote des semences
La graine : une source d'inoculum pour la plante
Diaporthe angelicae et *D. eres* : agents responsables des grillures d'ombelles de carotte porte-graines
Combiner résistance variétale à l'alternariose et amertume chez la carotte
L'aldaulactone : une toxine fongique originale impliquée dans l'agressivité d'*Alternaria dauci* sur la carotte
Sensibilité des cibles aux insecticides
Impact d'une exposition des insectes à des doses sublétales d'insecticides

Diagnostics et analyses

p 15

Test Belarosa de résistance des rosiers à la maladie de la tache noire
Méthode de détection et d'identification de *Xylella* en une seule opération

Stratégies innovantes de lutte contre les bioagresseurs

p 16

Utilisation des Stimulateurs de Défense des Plantes en verger
Diminuer les fongicides : une réalité tangible
Impact des stimulateurs de défense des plantes (SDP) sur un ravageur du pommier et sur ses ennemis naturels
Mise en place d'une défense efficace de la plante en réponse aux agresseurs des agents pathogènes
Processus écologiques impliqués dans l'assemblage du microbiote des semences
Méthode de lutte biologique contre les agents pathogènes au sein des graines
Un insecticide dopé par un agent synergisant nanoencapsulé
Logiciel MARCUS : simulation de la dispersion d'une maladie dans un paysage

Chaque article est associé à une échelle TRL (Technology Readiness Level) qui permet d'évaluer le niveau de maturité d'une technologie

Recherche fondamentale et appliquée

Recherche avancée et démonstration

Qualification et opérationnalité technologique

Un nouveau scénario d'émergence de virulence dans les vergers

Risques épidémiologiques encourus par l'introduction d'une population de *V. Inaequalis* (tavelure)



Comprendre pourquoi les gènes de résistance des plantes aux maladies perdent si rapidement leur efficacité au champ est essentiel pour optimiser la gestion des ressources génétiques. Le gène de résistance du pommier à la tavelure *Rvi6*, dont le géniteur est le pommier ornemental *Malus floribunda*, est le plus utilisé dans les programmes de sélection et confère la résistance à de nombreuses variétés (ex : Ariane). Cependant il a été rapidement contourné dans les vergers dès les années 2000. L'équipe a d'abord cherché à identifier la source de la virulence chez le pathogène responsable *Venturia inaequalis*. En s'appuyant sur un échantillonnage réalisé (1) dans les vergers européens, (2) sur le géniteur du gène *Rvi6* *Malus floribunda* et (3) sur *M. sieversii*, l'ancêtre du pommier cultivé présent à l'état sauvage en Asie Centrale (Kazakhstan, Chine), il a pu être démontré que la virulence provient d'une population de *V. inaequalis* qui préexistait avant même l'introduction dans les vergers des variétés portant le gène *Rvi6*. Cette population identifiée sur *M. floribunda* aurait divergé des populations présentes en vergers depuis plus de 20 000 ans. C'est donc très probablement l'introduction dans les vergers de variétés portant *Rvi6* qui, tel un cheval de Troie, a permis à la population virulente de s'y introduire et de s'y installer.

Nous avons rarement l'occasion de suivre en direct une situation de remise en contact de populations ayant divergé depuis si longtemps. Face à cette situation exceptionnelle l'équipe s'est intéressée au devenir de cette cohabitation : y allait-il y avoir des événements d'hybridation? A l'évidence, ces populations de pathogènes ont divergé depuis tellement longtemps qu'il existe très peu de cas d'hybridation à l'échelle européenne. En revanche, quand ces hybridations ont lieu, il a pu être démontré que certains hybrides-descendants présentent une agressivité supérieure aux souches parentales !

Un nouveau scénario d'émergence -Scénario du cheval de Troie- a ainsi été découvert et une alerte a été donnée sur les risques épidémiologiques encourus par l'introduction dans le compartiment cultivé d'une population sauvage divergente. La question de la gestion durable des résistances a donc été posée sous un angle nouveau, dans un contexte où les virulences peuvent préexister sur les hôtes-sources de résistances. Sur le plan fondamental, la situation de remise en contact secondaire suivie d'événements d'hybridation permet d'avoir accès à certains mécanismes évolutifs impliqués dans la spéciation.

Partenaires : cette étude a été menée par l'unité IRHS avec le Department of Plant Pathology, Institute of Horticulture (Pologne) et le Department of Food Science, Aarhus University (Danemark).

Publications associées : Lemaire C., de Gracia M., Leroy T., Michalecka M., Lindhard-Pedersen H., Guérin F., Gladieux P., Le Cam B. (2015) Emergence of new virulent populations of apple scab from non-agricultural disease reservoirs. *New Phytol.* DOI: 10.1111/nph.13658.

Leroy T., Caffier V., Celton J.M., Anger N., Durel C.E., Lemaire C., Le Cam B. (2016). When virulence originates from nonagricultural hosts: evolutionary and epidemiological consequences of introgressions following secondary contacts in *Venturia inaequalis*. *New Phytol.* DOI: 10.1111/nph.13873.

Contact : Bruno Le Cam, UMR IRHS, bruno.lecam@inrae.fr

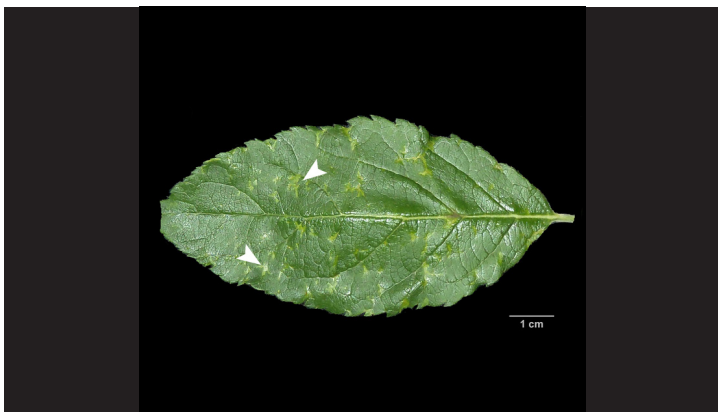
Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Des pyramides contre la tavelure du pommier ?

Associer des résistances génétiques différentes pour prolonger leur efficacité



L'utilisation de variétés résistantes permet de réduire l'usage des fongicides. Cependant, les agents pathogènes peuvent évoluer et contourner les résistances des plantes. Il est donc nécessaire d'élaborer des stratégies pour améliorer leur durabilité.

Combiner («pyramider») des gènes de résistance agissant de manière complémentaire contre les agents pathogènes pourrait être une solution. Cette hypothèse a été testée dans le cas de la tavelure du pommier, maladie causée par le champignon *Venturia inaequalis*. Dans un premier temps, la durabilité d'une résistance basée sur 1 QTL (= Quantitative Trait Locus, i.e. zone du génome impliquée dans la variation quantitative du caractère étudié, ici la résistance) a été évaluée. L'expérimentation a été conduite sur une durée de 8 ans dans un verger où les arbres présentaient cette résistance. Des souches de *V. inaequalis* ont été échantillonnées dans ce verger et leur agressivité a été évaluée par des inoculations de pommiers possédant le QTL étudié en conditions contrô-

lées. Il a ainsi été montré que la résistance étudiée sélectionne des souches agressives.

Pourtant la perte d'efficacité de cette résistance au verger reste lente. L'intérêt du pyramidage de ce QTL avec 2 autres QTLs de résistance dans une même variété a ensuite été testé. En utilisant des souches de *V. inaequalis* de différents niveaux d'agressivité, il a pu être montré que le pyramidage des 3 QTLs est plus efficace que les QTLs utilisés seuls. Ce résultat s'explique par le fait que ces QTLs agissent à différents stades du cycle infectieux du champignon: à un stade très précoce dès sa pénétration ou ultérieurement lors de sa croissance sub-cuticulaire et de sa sporulation. Le pyramidage des 3 QTLs combine ces effets. L'étape suivante consiste à déterminer si les voies métaboliques de la plante contrôlées par chaque QTL agissent de manière synergique lors de l'infection.

Partenaires : ces résultats ont été obtenus conjointement par les unités IRHS et Horticole à Angers, dans le cadre des travaux de thèse de G. Laloi (thèse cofinancée INRAE-Région Pays de la Loire) et avec le soutien du métaprogramme INRAE SMaCH (projet ARAMIS).

Publications associées :

Caffier V., Le Cam B., Al Rifai M., Bellanger M.N., Comby M., Denancé C., Didelot F., Expert P., Kerdraon T., Lemarquand A., Ravon E., Durel C.E. (2016). Slow erosion of a quantitative apple resistance to *Venturia inaequalis* based on an isolate-specific Quantitative Trait Locus. *Infection, Genetics and Evolution*, 44, 541-548. DOI:10.1016/j.meegid.2016.07.016.
Laloi G., Vergne E., Durel C.E., Le Cam B., Caffier, V. (2016). Efficiency of pyramiding of three quantitative resistance loci to apple scab. *Plant Pathology*. DOI: 10.1111/ppa.12581.

Contact : Valérie Caffier, UMR IRHS, valerie.caffier@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Résistance à la tavelure du pommier

Création d'une gamme de souches de référence internationale sur *Venturia inaequalis*



La tavelure, causée par le champignon *Venturia inaequalis*, est l'une des principales maladies du pommier (*Malus x domestica*), et nécessite 10 à 20 traitements fongicides par an pour un contrôle efficace. Pour réduire l'usage des fongicides grâce à l'utilisation de variétés résistantes, il est indispensable de créer de nouvelles variétés, possédant de nouveaux gènes de résistance ou des combinaisons de gènes. Pour cela, les sélectionneurs ont besoin à la fois d'une gamme d'hôtes possédant les gènes de résistance connus ainsi qu'une gamme de souches de *V. inaequalis* caractérisées pour leurs virulences. Actuellement, une gamme de 17 hôtes appartenant au genre *Malus* a été décrite. Une gamme de souches de référence correspondante a ainsi été définie.

23 souches de *V. inaequalis* sur 14 de ces hôtes ont été inoculées en conditions contrôlées. A partir de l'observation des symptômes de maladie ou de résistance, le caractère avirulent ou virulent de chaque souche a été défini sur chaque hôte. Une souche avirulente entraîne des symptômes de résistance, avec absence ou peu de sporulation. Une souche virulente n'induit pas de symptôme de résistance et produit une sporulation abondante. Ainsi 3 hôtes résistants à l'ensemble des souches de la gamme ont été trouvés. Pour les autres hôtes testés, il existe au moins une souche virulente. 16 combinaisons de virulences différentes ont été observées, les souches multivirulentes pouvant présenter jusqu'à 6 virulences.

Cette gamme de souches de référence permettra l'identification de nouveaux gènes de résistance à la tavelure chez le pommier et contribuera aux travaux sur les interactions hôte-pathogène. Ces souches de référence sont disponibles sur demande auprès de l'INRAE (UMR IRHS, équipe EcoFun, Angers, France).

Partenaires : ces résultats ont été obtenus grâce à une collaboration internationale entre la France (INRAE), la Nouvelle-Zélande (PFR), la Suisse (Agroscope et ETHZ), et les Pays-Bas (Université de Wageningen).

Publications associées : Caffier, V., Patocchi, A., Expert, P., Bellanger, M. N., Durel, C. E., Hilber-Bodmer, M., Brogini, G. A. L., Groenwold, R., & Bus, V. G. M. (2015). Virulence Characterization of *Venturia inaequalis* Reference Isolates on the Differential Set of *Malus* Hosts. *Plant Disease*, 99(3), 370-375. DOI:10.1094/pdis-07-14-0708-re.

Contact : Valérie Caffier, UMR IRHS, valerie.caffier@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Contrôle génétique de la tavelure : éphémère ou durable ?

La combinaison de facteurs de résistances dans une même plante apporte des efficacités contrastées selon les vergers



Les variétés résistantes aux bio-agresseurs constituent l'un des éléments clé des systèmes de culture à bas-intrants. Cependant, les bio-agresseurs peuvent évoluer et contourner ces résistances. Combiner ("pyramider") des facteurs de résistance dans une même plante pourrait être une solution pour prolonger l'efficacité des résistances dans le temps. Nous avons testé l'intérêt du pyramidage de résistances quantitative et qualitative pour contrôler la tavelure du pommier, maladie causée par le champignon *Venturia inaequalis*. La résistance quantitative apporte une réduction partielle de la quantité de maladie et présente un mode d'hérédité de type continu, tandis que la résistance qualitative apporte une réduction totale de la maladie et présente un mode d'hérédité de type bimodal.

L'expérimentation a été conduite sur une durée de 7 ans dans deux vergers sur des pommiers portant chaque type de résistance seule ou les deux types de résistance en combinaison. Sur l'un des vergers, l'efficacité du pyramidage est éphémère et s'estompe dans les 2 ans suivant le début de l'érosion des résistances seules alors que dans le 2ème, le pyramidage réduit significativement la maladie malgré la perte d'efficacité totale des résistances seules.

Les deux vergers comportent les mêmes génotypes de pommier et les quantités de maladie sur les pommiers sensibles sont similaires. Les résultats contrastés d'efficacité du pyramidage entre les deux vergers s'expliquent donc probablement par des différences de capacité des populations pathogènes à cumuler, selon les vergers, des facteurs d'agressivité nécessaires à l'infection sur les pommiers combinant les 2 types de résistance. Le cumul des facteurs d'agressivité est possible lorsque les populations pathogènes peuvent se recombiner par reproduction sexuée. Toutefois, même en cas d'efficacité éphémère, ces résultats sont prometteurs car ils apportent un moyen de lutte supplémentaire à intégrer dans les systèmes de culture à bas-intrants.

Partenaires : ces résultats ont été obtenus dans le cadre d'une collaboration entre les unités IRHS et Horticole (Angers) et le Centre Régional de Ressources Génétiques (CRRG, Villeneuve d'Ascq).

Publications associées : Lassere-Zuber P., Caffier V., Stievenard R., Lemarquand A., Le Cam B., & Durel C.E. (2018). Pyramiding Quantitative Resistance with a Major Resistance Gene in Apple: from Ephemeral to Enduring Effectiveness in Controlling Apple Scab Plant Disease.

Contact : Valérie Caffier, UMR IRHS, valerie.caffier@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Résistance du poirier à la tavelure et au psylle

Plusieurs facteurs de résistance génétique permettent d'envisager des variétés multi résistantes



Le champignon *Venturia pirina*, responsable de la maladie de la tavelure, et le psylle *Cacopsylla pyri*, insecte ravageur, sont deux des principaux bioagresseurs du poirier (*Pyrus communis*). Ceux-ci ayant développé des résistances suite à l'utilisation massive de certains produits phytopharmaceutiques, la lutte génétique (recherche de gènes de résistance) semble être un des meilleurs leviers pour les maîtriser. Dans le cadre de collaborations franco-japonaise et franco-italo-néo-zélandaise, des facteurs de résistance génétique du poirier vis-à-vis du psylle et de la tavelure ont été identifiés.

La cartographie génétique avec des marqueurs moléculaires (ADN) permet de baliser le génome du poirier ; c'est l'étape de génotypage. Les plantes sont en parallèle évaluées en serre pour leur résistance vis-à-vis du psylle et de la tavelure ; c'est l'étape de phéno-

typage. Des calculs de corrélation entre données de génotypage et de phénotypage ont permis de détecter six nouveaux facteurs de résistance vis-à-vis de l'un ou l'autre de ces bioagresseurs, répartis sur différents chromosomes du poirier. Certains de ces facteurs de résistance sont localisés dans des régions du génome du poirier correspondant à des régions synténiques (c.à.d. équivalentes) du génome du pommier (*Malus*) pour lesquelles d'autres facteurs de résistance ont été identifiés, comme des facteurs de résistance à la tavelure et aux pucerons.

Ces résultats permettent d'envisager le cumul de plusieurs facteurs de résistance dans le cadre de la sélection assistée par marqueurs et la création de nouvelles variétés de poirier multirésistantes.

Partenaires : ces travaux ont été réalisés par l'UMR IRHS en collaboration avec les équipes de T. Yamamoto (NARO, Japon), de R. Velasco (FEM, Italie) et de D. Chagné (PFR, Nvlle Zélande) et grâce au projet jeune chercheur SyntéPoirPom de l'Université d'Angers.

Publications associées : Perchepied L., Leforestier D., Ravon E., Guérif P., Denance C., Teller M., Terakami S., Yamamoto T., Chevalier M., Lespinasse Y., Durel C. E. (2015). Genetic mapping and pyramiding of two new pear scab resistance QTLs. *Molecular Breeding* 35(10). DOI:10.1007/s11032-015-0391-5.

Montanari S., Guérif P., Ravon E., Denancé C., Muranty H., Velasco R., Chagné D., Bus V.G.M., Robert P., Perchepied L., Durel, C.E. (2015). Genetic mapping of *Cacopsylla pyri* resistance in an interspecific pear (*Pyrus* spp.) population. *Tree Genet Genomes* 11(74). DOI: 10.1007/s11295-015-0901-y.

Contact : Charles-Eric Durel, UMR IRHS, charles-eric.durel@inrae.fr

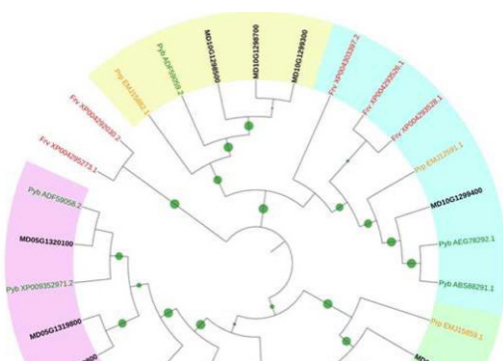
Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Identification d'un promoteur de pommier activé spécifiquement par une attaque de feu bactérien

Vers la production de pommiers intragéniques résistants à *Erwinia amylovora*



Protéger les cultures de pommier du feu bactérien, causé par la bactérie *Erwinia amylovora*, est un enjeu important pour l'arboriculture fruitière car cette maladie peut détruire des vergers entiers. En complément des programmes de création de nouvelles variétés par hybridation, de très longue durée, notre équipe teste la possibilité d'employer les biotechnologies pour parvenir à cet objectif. L'intragenèse est une alternative importante à la transgénèse pour produire des plantes modifiées contenant uniquement de l'ADN natif, issu du pommier. Un point clé pour développer une telle stratégie est la disponibilité de séquences régulatrices (promoteurs) contrôlant l'expression du gène d'intérêt. Il est donc crucial de disposer d'un promoteur de pommier permettant d'exprimer un gène de résistance ou de défense uniquement lors de l'attaque par la bactérie.

Les gènes de polyphénoloxidase (PPO) du pommier sont particulièrement activés lors des premières étapes de l'infection par *Erwinia amylovora*. En étudiant l'activité d'un gène « rapporteur » sous le contrôle de plusieurs de ces promoteurs, il a été possible d'en identifier un, le promoteur pPPO16, qui active fortement le gène rapporteur dans les heures qui suivent une infection par *Erwinia amylovora*. Ce travail a donc permis de caractériser le premier promoteur de pommier inducible par le feu bactérien.

Ce travail original est une première étape vers la conception de stratégies d'intragenèse associant un gène de résistance ou de défense du pommier avec ce promoteur de PPO. Ceci permettra de modifier ponctuellement le génome de variétés de pommier très sensibles au feu bactérien pour les rendre naturellement résistantes à cette maladie, sans introduction d'aucune séquence d'ADN étranger.

Partenaires : cette étude a été menée par l'unité IRHS, avec l'appui technique de la plateforme Phenotic et de l'unité HORTI, ainsi que de la SNES et du plateau technique ANAN de la SFR Quasav.

Publication associée : Gaucher M., Righetti L., Aubourg S., Dugé de Bernonville T., Brisset MN, Chevreau E., Vergne E. 2019. An *Erwinia amylovora* inducible promoter for intragenic improvement of apple fire blight resistance. *Biorxiv* ID#: BIORXIV/2019/767772. DOI: 10.1101/767772.

Contact : Elisabeth Chevreau, UMR IRHS, elisabeth.chevreau@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Emergence de *Xylella* en France

La diversité de *Xylella fastidiosa* suggère une présence ancienne



Autrefois confinée aux Amériques, *Xylella fastidiosa* a été identifiée pour la 1^{ère} fois en Europe en 2013 dans des oliviers dans les Pouilles (Italie), puis en juillet 2015 dans des plantes ornementales en Corse et en octobre de la même année en Région PACA. Cette bactérie phytopathogène génétiquement diverse et au spectre d'hôte très large représente une menace importante pour l'agriculture méditerranéenne et Européenne.

L'utilisation du typage multilocus, méthode de référence pour l'analyse de la diversité des bactéries, a permis d'identifier deux types de souches majoritaires en France, les ST6 et ST7 de la sous espèce multiplex. La présence ponctuelle d'autres souches, ST53 appartenant à la sous-espèce *pauca*, ST76 de la sous-espèce *fastidiosa/sandyi*, a également été relevée. Certains échantillons se sont également révélés infectés par des mélanges de souches. Une cinquantaine d'espèces végétales se sont avérées hôte de ces bactéries en France, la très grande majorité étant des espèces ornementales ou endémiques du maquis. Les symptômes observés en France s'avèrent généralement peu sévères et

difficiles à identifier, car peu caractéristiques. Toutefois, la vérification des postulats de Koch permet d'affirmer que *X. fastidiosa* est bien la cause des symptômes observés sur polygale à feuille de myrte et olivier. La diversité des souches identifiées en France et leur dispersion sur le territoire, les résultats d'analyses mécanistico-statistiques et d'analyses de séquences génomiques indiquent que certaines souches auraient pu avoir été introduites en Corse il y a plus de trente ans.

Le typage systématique de tous les échantillons infectés et l'analyse fine des séquences génomiques de souches isolées en France comparativement à celles de leurs congénères isolées aux Amériques et dans d'autres pays d'Europe permettront de re-construire les routes d'introduction et l'histoire évolutive de cet agent pathogène.

Partenaires : cette étude a été menée par l'unité IRHS en collaboration avec l'ANSES. La catégorisation de la bactérie a été effectuée par le panel de la santé des plantes de l'EFSa, dont MA Jacques est membre.

Publications associées :

- Denance N, Legendre B, Briand M, Olivier V, de Boisseson C, Poliakov F, Jacques M-A. (2017). Several subspecies and sequence types are associated with the emergence of *Xylella fastidiosa* in natural settings in France. *Plant Pathology* 66:1054–1064. DOI:10.1111/ppa.12695.
- EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health), Jeger M, Caffier D, Candresse T, Chatzivassiliou E, Dehnen-Schmutz K, Gilioli G, Gr_egoire J-C, Jaques Miret JA, MacLeod A, Navajas Navarro M, Niere B, Parnell S, Potting R, Rafoss T, Rossi V, Urek G, Van Bruggen A, Van der Werf W, West J, Winter S, Almeida R, Bosco D, Jacques M-A, Landa B, Purcell A, Saponari M, Czwienczek E, Delbianco A, Stancanelli G and Bragard C (2018). Scientific Opinion on the updated pest categorization of *Xylella fastidiosa*. *EFSA Journal* 2018;16(7):5357, 61. DOI:10.2903/j.efsa.2018.5357.

Contact : Marie-Agnès Jacques, UMR IRHS, marie-agnes.jacques@inrae.fr

Recherche fondamentale et appliquée

Recherche avancée et démonstration

Qualification et opérationnalité technologique

Apparition de nouvelles bactéries pathogènes sur plantes

Mécanismes moléculaires impliqués dans l'émergence de *Xanthomonas*



De nouvelles souches bactériennes pathogènes sur plantes apparaissent régulièrement et peuvent être responsables de dégâts importants sur les cultures. La compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents à de telles émergences devrait permettre l'élaboration de pratiques agronomiques plus durables.

L'acquisition de gènes de virulence par des souches environnementales non-pathogènes constitue une hypothèse souvent discutée pour expliquer l'apparition de nouvelles souches pathogènes. Afin de tester cette hypothèse, des gènes de virulence ont été introduits dans des souches non-pathogènes de *Xanthomonas*, qui codent une nano-siringue (système de sécrétion de type 3) permettant l'injection de protéines bactériennes dans les cellules végétales. L'injection de ces protéines permet à la bactérie de perturber le métabolisme de la plante et provoquer une maladie.

Nous montrons que l'acquisition de ce système de sécrétion par les souches non-pathogènes testées leur permet de bloquer la mise en place de certaines défenses de la plante, mais ne leur permet ni de mieux se multiplier, ni de provoquer des symptômes sur plantes. Les résultats obtenus apportent des arguments expérimentaux aux modèles d'évolution des souches dans le genre *Xanthomonas* qui ont été proposés récemment grâce à des approches de génomique des populations.

Partenaires : ce travail a été réalisé en partenariat entre l'unité IRHS (Angers), l'unité LIPM (Toulouse) et les plateformes PHENOTIC et CIRM-CFBP (Angers).

Publications associées : Méline, V., Delage, W., Brin, C., Li-Marchetti, C., Sochard, D., Arlat, M., Rousseau, C., Darrasse, A., Briand, M., Lebreton, G., Portier, P., Fischer Le Saux, M., Durand, K., Jacques, M. A., Belin, E., & Boureau, T. (2018). Role of the acquisition of a Type 3 Secretion System in the emergence of novel pathogenic strains of *Xanthomonas*. *Molecular Plant Pathology*. DOI:10.1111/mp.12737.

Contact : Tristan Boureau, UMR IRHS, tristan.boureau@univ-angers.fr

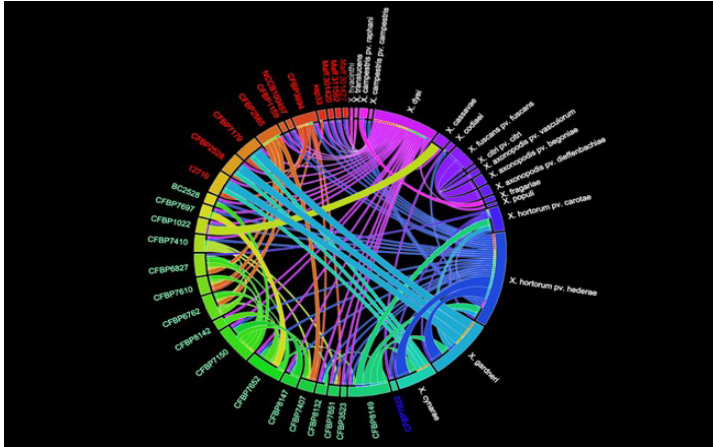
Recherche fondamentale et appliquée

Recherche avancée et démonstration

Qualification et opérationnalité technologique

Trafic d'armes chez les bactéries phytopathogènes

Acquisitions ancestrales et flux de gènes au sein du système d'infection



Afin d'appréhender les mécanismes sous-jacents à l'émergence de nouveaux agents pathogènes dans les agro-écosystèmes, il est nécessaire de comprendre comment évoluent et se transmettent les gènes codant les protéines responsables de leur virulence. Les molécules effectrices (ET3) vont permettre aux bactéries de contourner les défenses de leur hôte et d'en manipuler le métabolisme pour favoriser leur multiplication. Ils peuvent aussi être reconnus par la plante, ce qui induit alors une résistance. Le SST3 et ses effecteurs jouent un rôle majeur dans l'interaction hôte-pathogène.

Les bactéries du genre *Xanthomonas* sont responsables de maladies sur plus de 400 espèces végétales incluant de nombreuses plantes cultivées (blé, tomate, arbres fruitiers...). Les analyses génomiques ont montré qu'elles ont acquis le système de sécrétion de type III (SST3) de façon ancestrale ainsi qu'un jeu réduit d'effecteurs leur permettant de contourner les défenses basales des plantes. Les flux de gènes entre espèces bactériennes, au niveau du cluster de gènes du SST3, ont probablement permis de distribuer au sein du genre les combinaisons d'allèles favorables pour la colonisation des hôtes des *Xanthomonas*. Au cours de l'évolution, certaines souches ont perdu les gènes du SST3 et des ET3 entraînant la perte de leur caractère pathogène. D'autres, au contraire, ont complété leur arsenal en accumulant dans leur génome de nombreux gènes d'effecteurs. L'émergence de clones bactériens épidémiques attaquant spécifiquement certaines plantes (ex. *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, agent pathogène des *prunus*) serait le produit de cette histoire évolutive.

Partenaires : cette étude a été menée par l'UMR IRHS, en collaboration avec ORT Braude College (Karmiel, Israël).

Publications associées : Merda D., Briand M., Bosis E., Rousseau C., Portier P., Barret M., Jacques M.-A., Fischer-Le Saux M. (2017). Ancestral acquisitions, gene flow and multiple evolutionary trajectories of the type three secretion system and effectors in *Xanthomonas* plant pathogens. *Molecular Ecology*. DOI:10.1111/mec.14343.

Contact : Marion Fischer-Le Saux, UMR IRHS, marion.lesaux@inrae.fr

Recherche fondamentale et appliquée

Recherche avancée et démonstration

Qualification et opérationnalité technologique

Bactéries pathogènes et non-pathogènes, une différence parfois ténue

Les symptômes de la bactériose du noyer sont associés à certains déterminants génétiques



Xanthomonas arboricola pathovar *juglandis* est l'agent bactérien responsable de la bactériose du noyer, principale maladie du noyer. Les dégâts sur fruits peuvent parfois causer plus de 50 % de perte de récolte.

Lors d'une enquête épidémiologique dans les vergers français visant à étudier la résistance au cuivre de cet agent pathogène, des souches initialement confondues avec l'agent pathogène ont été isolées. Leur caractérisation génétique par des approches de phylogénie et d'épidémiologie moléculaire a révélé qu'elles appartenaient bien à l'espèce *X. arboricola* mais qu'elles se différençaient génétiquement des souches pathogènes. Leur incapacité à provoquer des symptômes sur jeunes plants de noyer et sur d'autres espèces végétales a été montrée.

La recherche des principaux déterminants moléculaires du pouvoir pathogène des *Xanthomonas* a montré que certaines lignées non pathogènes étaient dépourvues des gènes codant le système de sécrétion de type III. Cette structure, aussi appelée «injection» et qui s'apparente à une seringue, permet aux souches pathogènes d'injecter directement, dans les cellules végétales, des molécules (effecteurs de type III, ET3) capables d'anéantir les réactions de défense des plantes et de détourner leur métabolisme à leur profit. Toutefois, d'autres lignées de bactéries non pathogènes possèdent les gènes de l'injection mais peu de gènes codant pour des ET3 comparativement aux souches pathogènes. Des analyses de génomique comparative permettront de révéler de nouveaux déterminants génétiques pouvant être à l'origine de l'émergence des souches responsables d'épidémies majeures dans les vergers.

Partenaires : ces travaux ont été réalisés au sein de l'UMR IRHS et financés par la Direction Générale de l'Armement.

Publications associées : Essakhi S., Cesbron S., Fischer-Le Saux M., Bonneau S., Jacques M.A., Manceau C. (2015). Phylogenetic and VNTR analysis Identified Non-pathogenic Lineages within *Xanthomonas arboricola* Lacking the canonical Type Three Secretion System. *Appl. Environ. Microbiol.* DOI:10.1128/AEM.00835-15.

Contact : Marion Fischer-Le Saux, UMR IRHS, marion.le-saux@inrae.fr

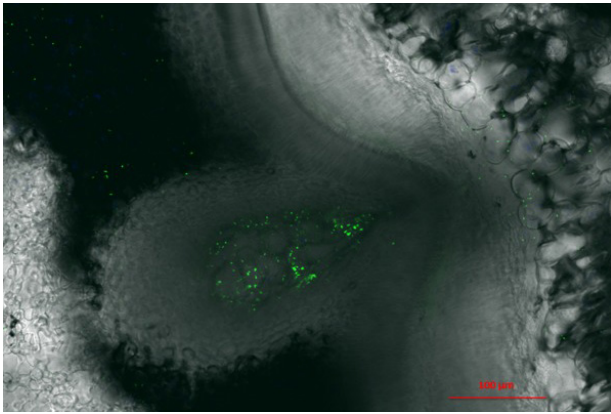
Recherche fondamentale et appliquée

Recherche avancée et démonstration

Qualification et opérationnalité technologique

Voies de transmission de *Xanthomonas* aux semences

Co-localisation des bactéries pathogènes et commensales dans les graines de haricot



L'identification des voies de transmission à la semence des organismes phytopathogènes et de leurs compétiteurs est essentielle pour proposer des méthodes de lutte biologique permettant de réduire l'incidence de la transmission des agents pathogènes.

Des souches commensales (i.e. non pathogènes) isolées de semences de haricot se sont avérées de bonnes compétitrices de la bactérie phytopathogène responsable de la gousse commune du haricot, *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* (*Xcf*), lors des tests in vitro.

En revanche, ces souches commensales se sont avérées incapables de se transmettre aux semences de haricot qu'elles soient seules ou confrontées à *Xcf*.

L'analyse par microscopie confocale de graines de haricot et de plantules a permis de confirmer la diversité des voies de transmission et des niches de *Xcf* dans ces organes. L'utilisation d'une technique de fluorescence in situ (DOPE-FISH) a également permis de montrer que des bactéries commensales du genre *Xanthomonas* peuvent être observées dans ces mêmes niches.

Des approches alternatives basées sur l'analyse du microbiote et de la co-occurrence de souches commensales et pathogènes est désormais privilégiée pour identifier les potentiels micro-organismes de lutte biologique dans les graines et plantules.

Partenaires : ce travail a été conduit dans l'équipe EmerSys de l'UMR IRHS en collaboration avec le plateau technique IMAC de la SFR Quasav et l'Austrian Institute of Technology (Autriche). Il a été financé par le projet européen FP7-KBBE TESTA.

Publications associées : Darrasse A., Barret M., Cesbron S., Compant S. and Jacques, M.-A. (2017). Niches and routes of transmission of *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* to bean seeds. *Plant and Soil*. DOI:10.1007/s11104-017-3329-3.

Contact : Marie-Agnès Jacques, UMR IRHS, marie-agnes.jacques@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Infection par des souches de *Xanthomonas* responsables de la gousse commune du haricot

Rôle des effecteurs tal en lien avec l'adaptation à l'hôte pour l'élaboration de stratégies de résistance



Les bactéries du genre *Xanthomonas* portent des effecteurs de type III appelés effecteurs transcription activator-like (TAL). Après avoir été injectés dans les cellules de l'hôte, les effecteurs TAL sont capables de migrer dans le noyau où ils agissent en général comme des facteurs de transcription de gènes de sensibilité afin de promouvoir l'infection. Les souches de *Xanthomonas* responsables de la gousse commune sur haricot se répartissent en quatre lignées phylogénétiquement distinctes appartenant à *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (*Xpp*) ou *X. citri* pv. *fuscans* (*Xcf*). L'objectif de ce travail a été d'étudier la diversité et l'évolution des effecteurs TAL en lien avec l'adaptation à l'hôte, chez les souches

de *Xanthomonas* responsables de la gousse commune du haricot. Nous avons séquencé 17 souches représentatives de la diversité des quatre lignées de *Xpp* et *Xcf* par séquençage PacBio. L'analyse de ces génomes a révélé l'existence de quatre gènes tal, dont deux sont localisés sur le chromosome et spécifiques de certaines souches de *Xcf*, tandis que les deux autres sont plasmidiques et partagés entre souches phylogénétiquement éloignées. Nous avons mis en évidence que ces deux tal plasmidiques avaient été récemment transférés horizontalement entre *Xcf* et *Xpp*.

Nos résultats suggèrent que les effecteurs tal plasmidiques contribuent à l'adaptation à l'hôte en étant transférés horizontalement entre des lignées phylogénétiquement distantes. Nous avons généré un mutant de *Xcf* dépourvu de tal et des mutants complétés avec chaque gène tal. Le séquençage des ARN après infiltration de ces souches dans des feuilles de haricot nous a permis d'étudier l'ensemble des gènes induits par chaque effecteur TAL. Ces analyses en cours ont pour but de trouver quelles sont les cibles de ces effecteurs, étape préliminaire à l'élaboration de stratégies de résistance basées sur l'utilisation des effecteurs TAL.

Publications associées : Ruh M, Briand M, Bonneau S, Jacques M-A, and Chen NWG. 2017. *Xanthomonas* adaptation to common bean is associated with horizontal transfers of genes encoding TAL effectors, *BMC Genomics* 18:670. DOI: 10.1186/s12864-017-4087-6.

Contact : Marie-Agnès Jacques, UMR IRHS, marie-agnes.jacques@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Un dilemme pour les graines : se développer ou se défendre ?

Identification d'un dialogue moléculaire entre les graines de *Medicago truncatula* en développement et *Xanthomonas*



Les qualités physiologiques (performance germinative) et sanitaires des graines (transmission d'agents pathogènes) conditionnent la mise en place du peuplement végétal et l'émergence de maladies. Leur maîtrise constitue donc un enjeu scientifique et technologique majeur.

Jusqu'à présent, les graines ont été considérées comme des vecteurs passifs des bactéries phytopathogènes. Cependant les travaux ont permis de découvrir un dialogue moléculaire entre la graine en développement de *Medicago truncatula* et les *Xanthomonas*, des bactéries phytopathogènes transmises par les semences. Ces dernières occasionnant des maladies préjudiciables pour les cultures.

Des analyses massives de l'expression des gènes montrent que la graine perçoit la bactérie et répond à sa présence en exprimant un ensemble de gènes impliqués dans la mise en place des défenses alors que les ARN codant les protéines de réserve diminuent. Cet investissement dans l'expression des défenses est toutefois limité dans le temps, puisqu'en fin de maturation aucune expression n'est observable, alors que des gènes impliqués dans la protection contre la dessiccation et la qualité germinative sont plus fortement exprimés. Ce dialogue moléculaire a été mis en évidence lorsque la graine de *Medicago* est contaminée par *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, c'est-à-dire en situation incompatible (en d'autres mots ne conduisant pas à la maladie). Aucun élément de ce dialogue n'est observable en présence de *Xanthomonas alfalfae* subsp. *alfalfae* (conduisant à la maladie). La réponse transcriptionnelle de la graine contaminée, la réduction du poids de la graine et une teneur accrue en chlorophylle en fin de maturation suggèrent un compromis entre l'activation des défenses basales et le développement. Ce travail constitue un nouveau modèle original permettant d'explorer les interactions fonctionnelles entre développement et tolérance aux stress biotiques et abiotiques.

Partenaires : ces travaux ont été conduits par l'UMR IRHS dans le cadre du projet QUALISEM,

Publications associées : Terrasson E., Darrasse A., Righetti K., Buitink J., Lalanne D., Ly Vu B., Pelletier S., Bolingue W., Jacques M.A., Leprince O. (2015). Identification of a molecular dialogue between developing seeds of *Medicago truncatula* and seedborne xanthomonads. *Journal of Experimental Botany* 66 (13): 3737-3752 DOI: 10.1093/jxb/erv167.

Contact : Olivier Leprince, UMR IRHS, olivier.leprince@agrocampus-ouest.fr

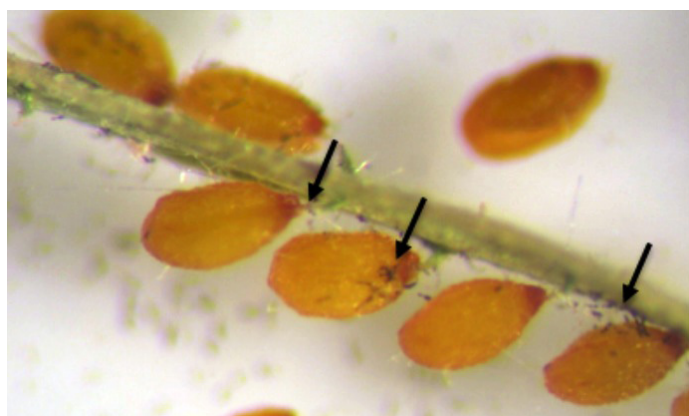
Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Adaptation d'*Alternaria* à la phase de dessiccation des semences

Identification de protéines de type hydrophilines pour protéger les cellules contre le stress hydrique



Certains agents pathogènes tels qu'*Alternaria brassicicola*, sont capables de se conserver au niveau des semences et de se transmettre ainsi à la plantule à venir. Pour déployer ce type de stratégie parasitaire, ces organismes se doivent de mettre en œuvre de mécanismes particuliers de tolérance aux contraintes hydriques auxquels ils sont soumis au cours de la phase de dessiccation de la semence. Les protéines de type hydrophilines présentent des caractéristiques physico-chimiques particulières et peuvent participer à la protection des cellules contre des stress hydriques.

À partir de la séquence génomique d'*A. brassicicola*, et en se basant sur des critères structuraux et d'expression, un répertoire de 20 hydrophilines a été identifié. Le rôle de deux de ces hydrophilines au cours du cycle infectieux a ensuite été étudié en générant des mutants fongiques incapables de produire l'une ou l'autre de ces protéines. Chacun de ces mutants conserve intacte ses capacités d'infection sur feuille. Ils sont par contre fortement affectés dans leur capacité à se transmettre aux semences, confirmant que ces deux acteurs de la réponse aux stress hydriques jouent un rôle majeur dans cette étape clé du cycle infectieux.

La compréhension et caractérisation des mécanismes de transmission des agents pathogènes aux semences constitue une étape cruciale pour envisager le déploiement de stratégies innovantes visant à limiter les pathologies sur semences.

Partenaires : cette étude a été menée par l'unité IRHS en collaboration avec l'unité EBI (Poitiers)

Publications associées : N'Guyen G, Raulo R, Marchi M, Agustí-Brisach C, Iacomini B, Pelletier S, Renou JP, Bataillé-Simoneau N, Campion C, Bastide F, Hamon B, Mouchès C, Porcheron B, Lemoine R, Kwasiborski A, Simoneau P, Guillemette T. (2019). Responses to hydric stress in the seed-borne necrotrophic fungus *Alternaria brassicicola*, *Frontiers in microbiology*. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01969.

Contact : Thomas Guillemette, UMR IRHS, thomas.guillemette@univ-angers.fr

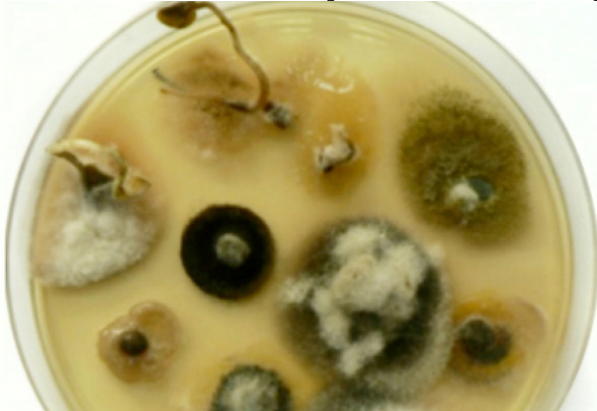
Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Transmission d'agents phytopathogènes à la semence

Le microbiote de celle-ci peut-être infecté, ou non



Les semences sont vectrices d'ensembles microbiens (aussi appelé microbiote) diversifiés dont la composition peut favoriser ou inhiber le développement de certains agents phytopathogènes. Il est donc essentiel de mieux comprendre l'évolution de ce microbiote lors du développement de la plante.

L'impact de l'invasion du microbiote de graines de radis par des agents pathogènes a été analysé. Des contaminations artificielles par la bactérie *Xanthomonas campestris* pv *campestris* (*Xcc*) et par le champignon *Alternaria brassicicola* (*Ab*) ont été effectuées sur les parties aériennes de porte graine cultivées. Après récolte, l'installation des agents pathogènes au sein des semences a été mesurée par des analyses classiques de mi-

crobiologie et de biologie moléculaire. La diversité microbienne présente au sein des échantillons de semences a ensuite été caractérisée par une approche de séquençage de marqueurs taxonomiques bactériens et fongiques. Les résultats de cette étude indiquent que la transmission de *Xcc* n'affecte pas la composition du microbiote des semences. En revanche la transmission d'*Ab* diminue significativement la diversité des ensembles fongiques associés aux semences. Cette perturbation est probablement due à des compétitions pour les ressources nutritives entre *Ab* et d'autres membres de la communauté fongique, notamment des souches saprophytes apparentées à l'espèce *Alternaria alternata*. Ces souches pourraient être, à terme, utilisées en tant qu'agent de lutte biologique.

Partenaires : ce travail de recherche a été réalisé au sein de l'UMR IRHS sur des échantillons de graines récoltées sur des parcelles expérimentales de la Fédération Nationale des Agriculteurs Multiplicateur de Semences. Ces travaux de recherche ont été financés par le projet metaSEED (Pari scientifique de la Région des Pays de la Loire).

Publications associées : Rezki S., Campion C., Iacomi-Vasilescu B., Preveaux A., Toualbia Y., Bonneau S., Briand M., Laurent E., Hunault G., Simoneau P., Jacques M. A., Barret M. (2016). Differences in stability of seed-associated microbial assemblages in response to invasion by phytopathogenic microorganisms. *PeerJ*, 4 : e1923. DOI: 10.7717/peerj.1923.

Contact : Matthieu Barret, UMR IRHS, matthieu.barret@inrae.fr

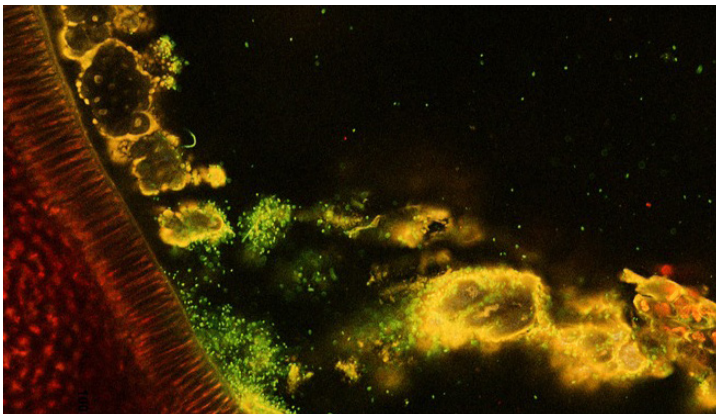
Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Microbiote des semences

Quelle influence relative pour le génotype et le terroir ?



Les semences sont vectrices de communautés microbiennes diversifiées (aussi appelées microbiotes) dont la composition peut favoriser la croissance des plantules ou permettre de résister aux bio-agresseurs. Pour être capable de sélectionner des microbiotes bénéfiques pour la croissance et la santé des plantes, il faut tout d'abord caractériser les facteurs impliqués dans leur composition.

Au cours de cette étude, les influences relatives du génotype de la plante et du site de culture sur la composition du microbiote des semences ont été analysées. Pour réaliser

ce travail, 5 cultivars de haricot ont été semés sur deux sites de culture et les graines ont été récoltées après un cycle de culture. La diversité microbienne associée aux échantillons de graines récoltées a ensuite été caractérisée par une approche de séquençage de marqueurs taxonomiques bactériens et fongiques. Les résultats de cette étude indiquent que le génotype de la plante n'influence pas la composition du microbiote des semences. En revanche le site de culture influence de manière significative la composition des communautés fongiques associées aux semences. Pour les communautés bactériennes, il semble que le terroir n'aurait qu'un effet mineur de structuration, ce qui implique que d'autres facteurs sont potentiellement impliqués dans la composition de ces ensembles.

Partenaires : ce travail de recherche est le fruit d'une collaboration entre l'UMR SAD-Paysage (Rennes) et l'UMR IRHS (Angers). Ces travaux de recherche ont été en partie financés par le projet metaSEED (Pari scientifique de la Région des Pays de la Loire) et le projet européen Solibam.

Publications associées : Klaedtke S., Jacques M.A., Raggi L., Préveaux A., Bonneau S., Negri V., Chable V., Barret M. (2016). Terroir is a key driver of seed-associated microbial assemblages. *Environmental Microbiology*. DOI: 10.1111/1462-2920.12977.

Contact : Matthieu Barret, UMR IRHS, matthieu.barret@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

La graine : une source d'inoculum pour la plante

La microflore retrouvée dans les feuilles et les racines provient d'une sélection de celle apportée par les semences



Les semences sont vectrices d'une microflore abondante et diversifiée dont le rôle est généralement méconnu. Pour améliorer la qualité sanitaire des semences, de nouveaux traitements doivent être proposés dans le contexte actuel de réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires.

L'une de ces méthodes alternatives consiste à enrober les semences avec des microorganismes possédant des propriétés bénéfiques pour la croissance et la santé des plantes. Cette lutte biologique se heurte cependant à des variations d'efficacité pouvant être en partie expliquées par l'activité des communautés microbiennes indigènes des semences. Il est donc essentiel de développer des analyses permettant de connaître l'ensemble des membres constituant les communautés microbiennes associées aux semences.

La composition des communautés microbiennes associées aux semences et son évolution au cours de la germination et de la levée de la plantule a été étudiée par une approche de séquençage de différents marqueurs bactériens et fongiques. Plusieurs espèces végétales ont été ciblées telles que le radis, la carotte ou encore le haricot. Les équipes de l'UMR IRHS ont mis en évidence une grande variation du nombre d'espèces bactériennes et fongiques entre les différents lots de semences analysés. En effet, une dizaine d'espèces bactériennes et fongiques sont associées aux semences de radis alors qu'environ 400 espèces microbiennes sont associées aux graines de haricots. Par ailleurs, le nombre d'espèces microbiennes diminue significativement au sein des plantules (après germination et levée) et se traduit par une sélection de taxons bactériens et fongiques fréquemment retrouvés au sein d'autres compartiments végétaux comme les racines et les feuilles. Ces résultats démontrent que la graine constitue une source d'inoculum importante pour la plante.

Partenaires : ce travail a été réalisé au sein de l'UMR IRHS sur des échantillons de graines fournies par les entreprises semencières Vilmorin et HM-Clause. Ces travaux de recherche ont été financés par le projet metaSEED (Pari scientifique financé par la Région des Pays de la Loire).

Publications associées : Barret M., Briand M., Bonneau S., Preveaux A., Valiere S., Bouchez O., Hunault G., Simoneau P., Jacques M. A. (2015). Emergence Shapes the Structure of the Seed Microbiota. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(4), 1257-1266. DOI: 10.1128/aem.03722-14.

Contact : Matthieu Barret, UMR IRHS, matthieu.barret@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

D. angelicae et *D. eres* : agents responsables des grillures d'ombelles de carotte porte-graines

Mise au point d'un outil d'aide à la décision des traitements fongicides



Depuis 2007, les grillures d'ombelles sont apparues en France sur porte-graines de carotte, impactant le rendement en semences. Cette étude a permis d'identifier et de caractériser les agents responsables : *Diaporthe angelicae* et *D. eres* en tant que responsables de la maladie.

Les deux espèces fongiques ont été détectées par des analyses moléculaires dans des lots de semences récoltées en conditions de production, la transmission des agents pathogènes de la semence à la plantule n'a cependant pas été montrée par les expériences menées lors du projet. Ce travail a eu un impact important en termes de gestion de méthodes de lutte en parcelles de production françaises et a permis la mise au point d'un outil d'aide à la décision des traitements fongicides basé sur un modèle déjà décrit sur tournesol (Asphodel).

Partenaires : cette étude a été menée par l'unité IRHS en partenariat avec le GEVES, la FNAMS et les entreprises HM Clause et Vilmorin.

Publications associées : Bastide F, Serandat I, Gombert J, Laurent E, Morel E, Kolopp J, Guillermin PL, Hamon B, Simoneau P, Berruyer R and Poupard P (2017) Characterization of fungal pathogens (*Diaporthe angelicae* and *D. eres*) responsible for umbel browning and stem necrosis on carrot in France. *Plant Pathology* 66, 239-253.

Contact : Pascal Poupard, UMR IRHS, pascal.poupard@univ-angers.fr

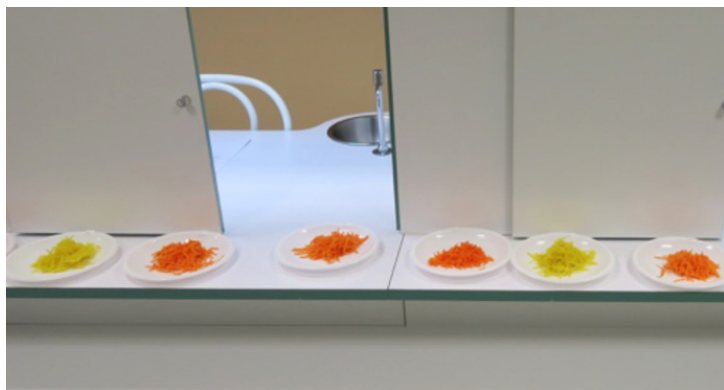
Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Combiner résistance variétale à l'alternariose et la qualité organoleptique chez la carotte

Des analyses biochimiques et sensorielles pour identifier les métabolites liés à l'amertume



Les producteurs de carottes sont demandeurs de variétés toujours plus résistantes à *Alternaria dauci*. Ce champignon pathogène provoque des brûlures foliaires (Alternariose), empêchant ainsi la récolte des carottes qui se fait par préhension des fanes. Si l'obtention de variétés hautement résistantes à ce pathogène est une priorité pour les sélectionneurs de l'espèce, les consommateurs sont, de leur côté, de plus en plus exigeants en matière de qualité gustative et souhaitent des carottes avec peu d'amertume. Alors que les facteurs de résistance au champignon ont été identifiés dans le génome, les régions génomiques impliquées dans l'amertume étaient inconnues au démarrage du projet Alterqual.

Dans le cadre de ce projet, des variétés de carotte présentant différents niveaux de résistance et d'amertume ainsi qu'une population combinant ces deux traits ont été évaluées sur 4 années au champ. Les analyses biochimiques et sensorielles avec un panel de

dégustateurs ont permis l'identification d'une dizaine de métabolites fortement liés à l'amertume. Les régions du génome impliquées dans l'accumulation de ces composés ont ensuite été identifiées. Globalement, les régions du génome impliquées dans la résistance à *A. dauci* sont différentes de celles qui contrôlent l'accumulation des métabolites liés à l'amertume.

Ces connaissances vont permettre de cumuler les zones du génome qui interviennent dans la résistance tout en évitant celles qui impacteraient trop fortement le goût amer des carottes. Ces résultats sont très utiles pour les sélectionneurs qui vont pouvoir développer des variétés hautement résistantes pour les producteurs tout en diminuant le niveau d'amertume des carottes ou tout au moins en évitant d'augmenter leur niveau.

Partenaires : cette étude a été menée par l'UMR IRHS, en collaboration avec les stations Ctifl de St Rémy de Provence et de Balandran.

Publications associées : Le Clerc, V., Aubert, C., Cottet, V., Yovanopoulos, C., Piquet, M., Suel, A., Huet, S., Koutouan, C., Hamama, L., Chalot, G., Jost, M., Pumo, B., Briard, M. (2019). Breeding for carrot resistance to *Alternaria dauci* without compromising taste. *Molecular Breeding*, 39(4), 59. DOI: 10.1007/s11032-019-0966-7.

Contact : Valérie Le Clerc UMR IRHS, valerie.leclerc@agrocampus-ouest.fr

Recherche fondamentale et appliquée

Recherche avancée et démonstration

Qualification et opérationnalité technologique

L'aldaulactone : une toxine fongique originale impliquée dans l'agressivité d'*Alternaria dauci* sur la carotte

Mais la carotte résiste...



Lorsqu'un agent pathogène parvient à rendre la plante malade, l'intensité des dégâts causés est la résultante d'un équilibre subtil entre l'environnement, le niveau d'agressivité de l'agent pathogène considéré et le niveau de résistance quantitative de la plante. On sait très peu de chose sur ces résistances quantitatives. Mieux connaître les mécanismes de ces résistances naturelles permettrait de mieux les utiliser en constituant une alternative durable à l'usage de pesticides. Dans le cas de la brûlure foliaire de la carotte, due au champignon *Alternaria dauci*, ce sont plus d'un million d'hectares qui sont concernés dans le monde. Or il existe des variétés de carotte plus ou moins résistantes à cette maladie, et des souches de champignon plus ou moins agressives.

L'effet des substances sécrétées par *A. dauci* a été étudié sur des cellules isolées de carotte. Premier résultat, ce mélange de substances est toxique pour la carotte, et plus la

souche d'*A. dauci* est agressive, plus ce mélange est abondant et toxique pour ces cellules (figure ci-dessus). Second résultat, les cellules des variétés de carotte résistantes à la maladie résistent à la toxicité de ces substances. La ou les toxines produites par *A. dauci* sont donc impliquées dans la capacité du champignon à rendre la plante malade. De plus, la résistance de la carotte face à cette toxine semble être un important mécanisme de résistance à l'agent pathogène.

L'étape suivante a été d'identifier la molécule à l'origine de cette toxicité. Parmi les substances sécrétées, une molécule est davantage produite par les souches de champignons les plus agressives. Cette molécule inconnue a été purifiée et caractérisée, puis nommée aldaulactone. Comme pour le mélange d'origine, l'aldaulactone seule est toxique pour les cellules de carotte (figure ci-dessous), et les cellules des variétés résistantes résistent à cette toxine.

L'aldaulactone joue donc un rôle fondamental dans cette interaction. Mais par quels mécanismes l'aldaulactone est-elle toxique pour les cellules de carotte ? Et comment certaines variétés de carotte résistent-elles à cette molécule et pas d'autres ?

Partenaires : ces travaux sont le résultat d'une collaboration entre les unités IRHS et SONAS à Angers.

Publications associées : Courtial J., Hamama L., Helesbeux J.J., Lecomte M., Renaux Y., Guichard E., Voisine L., Yovanopoulos C., Hamon B., Ogé L., Richomme P., Briard M., Boureau T., Gagné S., Poupard P. and Berruyer R. (2018). Aldaulactone — An Original Phytotoxic Secondary Metabolite Involved in the Aggressiveness of *Alternaria dauci* on Carrot. *Front. Plant Sci.* 9:502. DOI: 10.3389/fpls.2018.00502

Contact : Romain Berruyer, UMR IRHS, romain.berruyer@univ-angers.fr

Recherche fondamentale et appliquée

Recherche avancée et démonstration

Qualification et opérationnalité technologique

Sensibilité des cibles aux insecticides

Moduler la réponse en prenant en compte l'ensemble des facteurs moléculaires et cellulaires



Les défis de l'agriculture sont d'une part d'assurer une production capable de fournir aux populations des matières premières saines et de qualité à un coût raisonnable et d'autre part de réduire, autant que possible, l'impact environnemental des pratiques agricoles. L'utilisation des produits phytosanitaires a permis d'accomplir des progrès en matière de rendements agricoles et de protection des cultures. Cependant, leur utilisation importante conduit à l'apparition de résistances vis-à-vis des insecticides. Il apparaît alors nécessaire de réduire l'utilisation de ces produits (comme recommandé par le plan Ecophyto) et de développer des méthodes alternatives de lutte plus raisonnées. Pour cela, une meilleure connaissance du mode d'action des insecticides ainsi que des facteurs pouvant moduler la sensibilité des cibles cellulaires aux insecticides est primordiale. Nous avons répertorié, et ceci pour la première fois, les différents facteurs qui influencent la sensibilité des cibles aux

insecticides. Les insecticides qui sont pour la plupart d'entre eux neurotoxiques, vont cibler des enzymes, des canaux ioniques et/ou des récepteurs neuronaux. Parmi les mécanismes cellulaires et moléculaires identifiés, la modification de la cible aux insecticides par mutation est la plus étudiée et la plus connue. Cependant, d'autres phénomènes cellulaires et moléculaires tels que l'épissage alternatif, la composition en sous-unités des récepteurs et les phénomènes de phosphorylation / déphosphorylation peuvent moduler la réponse à un insecticide. En effet, il a par exemple été montré au laboratoire que lorsque les pucerons du pois *Acyrtosiphon pisum* sont exposés aux néonicotinoïdes, l'expression des récepteurs nicotiniques qui en sont la cible est modifiée. La densité de la cible est également un facteur important dans la réponse aux insecticides. Il a été montré que cette densité pouvait être régulée par des protéines accessoires également appelées protéines auxiliaires. Ainsi, chez la blatte *Periplaneta americana*, en fonction du type de protéine auxiliaire associée au canal sodium dépendant du potentiel, l'action du DCJW, métabolite du pro-insecticide indoxacarbe est différente. Les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la sensibilité des cibles aux insecticides devront être étudiés dans un contexte d'exposition aux insecticides. En effet, des études préliminaires nous indiquent qu'une exposition sub-chronique entraîne des modifications cellulaires et moléculaires qui permettent à l'organisme de l'insecte de s'adapter rapidement au traitement insecticide.

Publications associées : Raymond V., Goven D., Benzidane Y., List O., Lapied B. (2017). Influence of cellular and molecular factors on membrane target sensitivity to insecticides. *Current medicinal chemistry*. Vol. 24. DOI: 10.2174/0929867324666170316111315.

Contact : Valérie Raymond, USC SIFCIR, valerie.raymond@univ-angers.fr

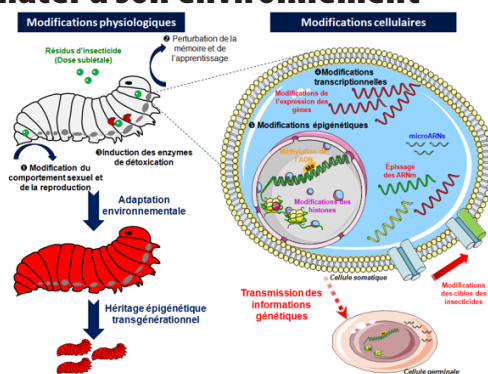
Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Impact d'une exposition des insectes à des doses sublétales d'insecticides

Mise en place de modifications physiologiques et moléculaires permettant à l'insecte de s'acclimater à son environnement



De nombreuses études se sont portées sur les mécanismes déployés par les insectes pour diminuer l'efficacité des insecticides. Néanmoins, l'exposition d'un insecte à une dose d'insecticide n'entraînant pas la mort, appelée dose sublétale, peut modifier la physiologie de l'insecte. Ainsi, l'effet des insecticides varie en fonction des doses utilisées. Selon les insectes, une exposition à une dose sublétale d'insecticide peut avoir un effet positif ou négatif sur leur survie.

Un état de l'art des modifications cellulaires et physiologiques induites par l'exposition des insectes à une dose sublétale d'insecticide a été réalisé. Ainsi, il a été montré chez la cicadelle qu'une exposition à une dose sublétale de sulfoxaflor, un insecticide de type sulfoximine, accélère son développement et augmente sa fécondité. Chez le bourdon, une

dose sublétale d'imidaclopride, un insecticide de type néonicotinoïde, diminue ses capacités de butinage. Ces effets pourraient s'expliquer par une modification de l'expression de gènes. Des analyses transcriptomiques ont ainsi montré chez l'abeille domestique qu'une exposition à une dose sublétale d'imidaclopride modifie l'expression de plus de 300 gènes. Des études similaires réalisées chez le criquet migrateur ont montré que les gènes différentiellement exprimés ne sont pas les mêmes en fonction de la dose d'insecticide testée. De plus, chez le puceron vert du pêcher, une exposition à une dose sublétale d'imidaclopride diminue sa sensibilité à cet insecticide et ce phénomène persiste sur plusieurs générations. L'ensemble de ces données montre que les mécanismes permettant l'acclimatation des insectes à leur environnement sont différents de ceux développés par les insectes résistants. Des études complémentaires sont donc nécessaires pour mieux comprendre ses mécanismes afin de les prendre en compte dans la gestion des insectes ravageurs de culture.

Partenaires : cette étude a été menée au laboratoire SIFCIR.

Publications associées : Alexandre Bantz, Jérémy Camon, Josy-Anne Froger, Delphine Goven & Valérie Raymond (2018). Exposure to sublethal doses of insecticide and their effects on insects at cellular and physiological levels. *Current Opinion in Insect Science*, 30: 73-78. DOI:10.1016/j.cois.2018.09.008.

Contact : Valérie Raymond, USC SIFCIR, valerie.raymond@univ-angers.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Test Belarosa de résistance des rosiers à la maladie de la tache noire

Pour l'évaluation du niveau de résistance des variétés vis-à-vis de souches du champignon

Diplocarpon rosae



Le champignon responsable de la maladie de la tache noire du rosier porte deux noms, l'un pour sa forme sexuée (*Diplocarpon rosae*) et l'autre pour sa forme asexuée (*Marssonina rosae*). Ce champignon est bien connu des jardiniers et professionnels du monde de la rose car la maladie de la tache noire est l'une des principales maladies foliaires du rosier et contribue à affaiblir les rosiers sensibles et à altérer la beauté des rosiers de jardin. En 2014, Byrne et Debener estimaient que seulement 7% des rosiers commercialisés portaient des résistances durables aux maladies foliaires ; les obtenteurs ont donc œuvré pour développer de nouvelles variétés résistantes.

Grâce à deux projets de recherche collaboratifs entre les obtenteurs de rosiers, des pépiniéristes et l'IRHS, un test en conditions contrôlées (serre) a été mis en place et permet d'évaluer le niveau de résistance des variétés de rosier vis-à-vis de 10 souches de champignons représentant la diversité génétique de *Diplocarpon rosae* sur le territoire français. Pour ce faire, une collection de champignon a été réalisée et comporte à ce jour 77 isolats monospores. Deux séquences du champignon ont été réalisées et ont permis de développer des marqueurs moléculaires spécifiques de *Diplocarpon*. L'originalité du test réside dans le fait que ce test est mené sur des boutures de rosiers et non sur des feuilles détachées comme cela est classiquement présenté dans la littérature. Ce test a été éprouvé sur 45 variétés de rosier non commercialisées permettant de montrer que le niveau de résistance de certaines nouvelles variétés de rosier était supérieur à celui de la variété sensible référente.

Ce test est maintenant disponible auprès du centre de R&D de Vegepolys Valley.

Contact : Laurence Hibrand Saint-Oyant, UMR IRHS, laurence.hibrand-saint-oyant@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Méthode de détection et d'identification de *Xylella* en une seule opération

Une nouvelle qPCR multiplex pour la détection et l'identification simultanée des sous-espèces de *Xylella fastidiosa*



Xylella fastidiosa est une bactérie phytopathogène de quarantaine pour l'Europe, représentant une menace importante pour de très nombreuses productions agricoles (vigne, fruitiers du genre *Prunus*, oliviers...), ornementales, et plus largement pour l'environnement. Cette bactérie est désormais installée dans les Pouilles (Italie), aux Baléares (Espagne) et en Corse. Toute nouvelle détection de *X. fastidiosa* hors de ces zones entraînera la mise en place d'une procédure d'éradication dont les paramètres dépendent de la sous-espèce en cause. Par ailleurs, il a récemment été montré que la réussite de la procédure d'éradication dépendait essentiellement d'une détection précoce de l'infection. Ainsi, il est hautement prioritaire de pouvoir détecter et identifier cette bactérie rapidement et le plus finement possible.

Les signatures de sous-espèces ont été recherchées dans les séquences génomiques grâce à l'outil bioinformatique sklf. Des jeux d'amorces-sonde ont été dessinés sur ces fragments spécifiques pour chaque sous-espèce pour une utilisation en PCR Taqman, la méthode de référence en santé végétale pour sa sensibilité et spécificité. Les paramètres des jeux d'amorces-sonde (inclusivité, spécificité, et limite de détection) ont été validés *in silico*, *in vitro* et *in planta*. Ces jeux ont été multiplexés et leur utilité a été démontrée sur une gamme d'échantillons végétaux prélevés en Corse, dont l'analyse était délicate avec la méthode actuellement utilisée pour l'identification dans les laboratoires de référence, étant en limite de détection de cette méthode. Le gain économique et en temps par rapport à cette méthode est également un point fort de ces outils.

Leur intégration dans la prochaine mise à jour du protocole de l'Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes (OEPP) est planifiée au printemps, ce qui permettra son appropriation et son utilisation par les laboratoires européens de référence pour la détection de *X. fastidiosa*.

Partenaire : ces études ont été conduites à l'unité IRHS.

Publications associées :

Dupas E, M Briand, M-A Jacques, S Cesbron. (2019). Novel tetraplex qPCR assays for simultaneous detection and identification of *Xylella fastidiosa* subspecies in plant tissues. *Frontiers in plant Sciences*. DOI: 10.3389/fpls.2019.01732.

Denancé N, M Briand, R Gaborieau, S Gaillard, M-A Jacques. (2019). Identification of genetic relationships and subspecies signatures in *Xylella fastidiosa*. *BMC Genomics* 20:239 DOI: 10.1186/s12864-019-5565-9.

Contact : Marie-Agnès Jacques, UMR IRHS, marie-agnes.jacques@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Utilisation des Stimulateurs de Défense des Plantes (SDP) en verger

Une solution possible pour diminuer les pesticides



Le traitement des plantes par des Stimulateurs de Défense des Plantes (SDP) pourrait contribuer à la diminution des pesticides en aidant la plante à se défendre elle-même contre les maladies et les ravageurs. Des produits efficaces ont d'ores et déjà été repérés en laboratoire mais il reste difficile de les faire fonctionner au champ.

Cette étude s'est focalisée sur un de ces produits, l'acibenzolar-S-méthyl (ASM), pour tenter de le faire agir efficacement en verger dans la lutte contre la tavelure du pommier, maladie nécessitant à elle seule 15 à 20 traitements fongicides par an.

Le protocole d'intégration de ce SDP dans l'itinéraire cultural du pommier a consisté à appliquer de manière régulière le produit sur un programme allégé en fongicides au printemps. Il a permis une protection efficace vis-à-vis de la tavelure en supprimant 8 traitements fongicides, ce qui représente environ 45% des traitements. En parallèle, et dans l'objectif d'améliorer à l'avenir cette efficacité, divers facteurs ont été étudiés en serre. Un effet variétal a été observé, suggérant que le choix de la variété est un levier à considérer. Des traitements répétés semblent favoriser la protection, d'autant plus que cette dernière est plus faible dans les feuilles se développant dans les jours suivant le traitement que dans les feuilles directement traitées. Enfin, il a pu être montré que l'association de l'ASM avec un produit d'éclaircissage chimique, couramment utilisé en verger pour alléger la charge en fruits, améliore très nettement les effets de protection.

Partenaires : cette étude a été menée par l'UMR IRHS, en partenariat avec l'unité expérimentale Horticole, projet collaboratif FUI Defistim.

Publications associées : Marolleau B., Gaucher M., Heintz C., Degrave A., Warneys R., Orain G., Lemarquand A. and Brisset M.-N. (2017). When a plant resistance inducer leaves the lab for the field: Integrating ASM into routine apple protection practices. *Front. Plant Sci.* 8:1938. DOI: 10.3389/fpls.2017.01938.

Contact : Marie-Noëlle Brisset, UMR IRHS, marie-noelle.brisset@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Diminuer les fongicides : une réalité tangible

Contrôle de la tavelure du pommier grâce à l'association de différentes méthodes de lutte



La lutte contre la tavelure du pommier nécessite généralement entre 10 et 20 traitements fongicides par an, notamment à cause de la grande sensibilité des variétés les plus cultivées actuellement. La protection intégrée offre des perspectives intéressantes de réduction de l'usage des fongicides en se basant sur l'association de différentes méthodes de lutte : utilisation de variétés résistantes, prophylaxie et lutte fongicide raisonnée ciblée sur les risques majeurs d'infection.

Une expérimentation sur 5 ans a été menée pour évaluer l'efficacité de cette stratégie. Chaque année, l'efficacité du contrôle de la tavelure a été évaluée sur feuilles à la fin des

infections primaires et sur fruits à la récolte. Les résultats obtenus montrent :

- Le maintien de l'efficacité du contrôle de la tavelure sur la variété Reine des Reinettes, vieille variété française, qui présente une résistance partielle à la tavelure,
- Une durée d'efficacité prolongée pour la variété Ariane, dont la résistance *Rvi6* est contournée par des souches virulentes du champignon pathogène.

Cette association de méthodes de lutte permet une réduction de 50% du nombre d'applications fongicides par rapport à la variété Gala menée en Production Fruitière Intégrée.

Les essais ont été menés près d'Angers, région très favorable au développement de la tavelure, en présence de souches virulentes. On peut donc s'attendre à ce que cette stratégie d'association de différentes méthodes de lutte renforce et prolonge l'efficacité des résistances en vergers commerciaux.

Partenaires : ces résultats ont été obtenus grâce à une collaboration entre les unités IRHS et Horticole à Angers.

Publications associées : Didelot F., Caffier V., Orain G., Lemarquand A., Parisi L. (2016). Sustainable management of scab control through the integration of apple resistant cultivars in a low-fungicide input system. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 217, 41-48. DOI: 10.1016/j.agee.2015.10.023.

Contact : Valérie Caffier, UMR IRHS, valerie.caffier@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Impact des stimulateurs de défense des plantes (SDP) sur un ravageur du pommier et sur ses ennemis naturels

Le goût et l'odeur du pommier stimulé indisposent le puceron cendré *Dysaphis plantaginea*



L'emploi de stimulateurs de défense des plantes (SDP) en verger de pommiers est une stratégie qui commence à être envisageable pour réduire le recours aux pesticides.

Un des objectifs des travaux de thèse de Romain Warneys menés dans l'équipe Respom de l'IRHS (et soutenue en décembre 2018), consistait à comprendre le mode d'action de l'acibenzolar-S-méthyl (ASM), un composé qui a fait ses preuves sur de nombreuses cultures et vis-à-vis de nombreux bioagresseurs, mais pour lequel aucun mécanisme d'action précis n'avait encore été élucidé.

Une analyse du transcriptome du pommier en réponse à l'ASM réalisée sur le plateau ANAN de la SFR, a permis d'identifier deux catégories de gènes fortement exprimés en réponse à l'ASM qui pourraient promouvoir une résistance vis-à-vis d'insectes ravageurs.

En premier lieu, cette analyse, a permis d'identifier et de caractériser, grâce à une collaboration avec l'équipe BIDEfl de l'IRHS, une famille de lectines qui serait responsable de l'augmentation de la mortalité du puceron cendré du pommier, *Dysaphis plantaginea*, lorsque celui-ci s'alimente sur des pommiers traités à l'ASM. En complément, l'analyse du transcriptome a révélé que l'ASM active la voie de biosynthèse de certains sesquiterpènes qui ont pu être détectés parmi les composés organiques volatiles émis par des pommiers stimulés : (E)- β -caryophyllène ; (E,E)- α -farnésène et germacrène-D. L'équipe EGL de l'IGEPP a montré que l'(E,E)- α -farnésène est répulsif vis-à-vis de *D. plantaginea*, ce qui expliquerait pourquoi les pucerons infestent préférentiellement des pommiers témoins plutôt que des pommiers traités à l'ASM.

Dans l'ensemble, ce travail a permis de mettre en lumière les mécanismes de la résistance induite par l'ASM, tout en montrant que ce SDP est capable de protéger le pommier contre un ravageur majeur, *D. plantaginea*. Si ces résultats devaient se confirmer sur le terrain, ils viendraient alimenter le panel des solutions alternatives aux insecticides de la famille des néonicotinoïdes, aujourd'hui interdits, et qui étaient employés pour maîtriser le puceron cendré du pommier.

Publications associées : Warneys, R., Gaucher, M., Robert, P., Aligon, S., Anton, S., Aubourg, S., Barthes, N., Braud, F., Cour-nol, R., Gadenne, C., Heintz, C., Brisset, M.-N., and Degraeve, A. 2018. Acibenzolar-S-Methyl Reprograms Apple Transcriptome Toward Resistance to Rosy Apple Aphid. *Front. Plant Sci.* 9:1–16. DOI: 10.3389/fpls.2018.01795.

Contact : Alexandre Degraeve, UMR IRHS, alexandre.degraeve@agrocampus-ouest.fr

Recherche fondamentale et appliquée

Recherche avancée et démonstration

Qualification et opérationnalité technologique

Mise en place d'une défense efficace de la plante en réponse aux agresseurs des agents pathogènes

Mise en évidence d'un peptide sécrété qui régule la réponse aux stress biotiques et l'élongation racinaire



Dans la réponse des plantes aux agressions des pathogènes, les peptides sécrétés jouent un rôle majeur dans la communication intercellulaire et l'initiation du signal permettant la mise en place d'une défense efficace.

En s'appuyant sur le fait que les gènes à l'origine de ces peptides de défense voient leur expression induite en réponse à des stress biotiques, une nouvelle famille de 14 gènes a été identifiée chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*. L'analyse bioinformatique de leur séquence a conduit à l'hypothèse que ces gènes sont à l'origine de précurseurs protéiques sécrétés (PROSCOOP) qui seront ensuite clivés pour générer de petits peptides fonctionnels (SCOOP). L'application exogène sur plantule de l'un de ces peptides (SCOOP12), synthétisé sur la base des prédictions bioinformatiques, déclenche effectivement à elle seule

différentes réactions de défense : production dérivés réactifs de l'oxygène*, expression de gènes clés de la réponse immunitaires (ex : FRK1) et renforcement des parois cellulaires par accumulation de callose (Figure 1).

L'étude de plantes mutantes ne produisant plus SCOOP12 a révélé que ce peptide, en plus d'être nécessaire à la production d'espèces réactives de l'oxygène dans les feuilles en réponse à un pathogène, pourrait réguler le taux d'espèces réactives de l'oxygène de manière constitutive dans les racines, taux dont on connaît la contribution dans le contrôle de l'élongation racinaire. La plante mutante proscop12 se caractérise en effet par des racines plus longues que les plantes sauvages (Figure 2). Les caractéristiques fonctionnelles de ces petits peptides sécrétés, à la frontière entre défense et développement, ouvrent des perspectives intéressantes en amélioration variétale pour une production végétale durable, tant sur le plan du contrôle de la croissance que de la lutte contre les bioagresseurs.

Partenaires : cette étude a été menée par l'unité IRHS (Angers) en collaboration avec les unités iEES (Paris) et IJPB (Versailles).

Publications associées : Gully K, Pelletier S, Guillou M-C, Ferrand M, Aligon S, Pokotylo I, Perrin A, Vergne E, Fagard M, Ruelland E, Grappin P, Bucher E, Renou J-P, Aubourg S (2019) The SCOOP12 peptide regulates defense response and root elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 4: 1349-1365. DOI: 10.1093/jxb/ery454.

Contact : Sébastien Aubourg, UMR IRHS, sebastien.aubourg@inrae.fr

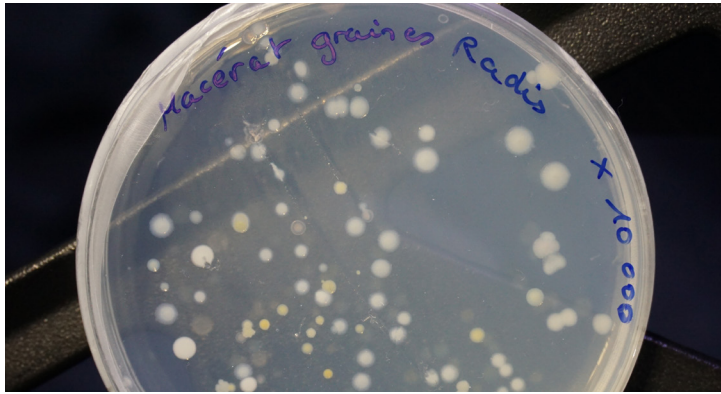
Recherche fondamentale et appliquée

Recherche avancée et démonstration

Qualification et opérationnalité technologique

Processus écologiques impliqués dans l'assemblage du microbiote des semences

Vers une méthode alternative à l'enrobage des semences



L'importance des processus écologiques impliqués dans l'assemblage du microbiote associé aux graines de radis a été évaluée lors de 3 générations successives de la plante hôte. L'héritabilité de la communauté microbienne entre générations de radis est assez limitée (core-communauté composée de 3 OTU) avec des modifications de composition entre générations et entre individus au sein d'une même génération. La distribution de la majorité des taxons microbiens associés aux graines de radis est expliquée par des processus de type neutre tels que la dispersion (pour la composante fongique) et la dérive écologique (pour la composante bactérienne). Cependant, quelques taxons semblent sélectionnés par l'hôte et/ou l'environnement local.

L'absence de sélection de la majorité des taxons microbiens associées aux graines de radis permet d'orienter les méthodes d'apport d'organismes de lutte biologique vers l'inoculation du porte-graine par lâcher inondatif en alternative à l'enrobage des semences. En effet, nos résultats suggèrent que l'abondance des taxons microbiens au sein de la culture assure leur transmission. Cette méthode alternative à l'enrobage de semences pourrait intéresser les entreprises semencières ainsi que les entreprises développant des solutions de biocontrôle ou de biostimulation.

Publications associées : Rezki S, Campion C, Simoneau P, Jacques MA, Barret M (2017) Assembly of seed-associated microbial communities within and across successive plant generations. *Plant & Soil*. DOI: 10.1007/s11104-017-3451-2.

Contact : Mathieu Barret, UMR IRHS, matthieu.barret@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Méthode de lutte biologique contre les agents pathogènes au sein des graines

Une compétition entre les bactéries pour le partage des ressources nutritives



Comme tout être vivant, les graines sont dotées d'un microbiote, jusqu'à présent peu étudié. Les graines sont vectrices de nombreux micro-organismes dont certains responsables de maladies pour la plante issue de la graine. Une des méthodes de lutte biologique contre ces maladies repose sur la compétition entre micro-organismes pour les ressources nutritives comme les sucres ou les acides aminés.

Au cours de ce travail, le partage des ressources nutritives entre la bactérie pathogène *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (*Xcc*), agent responsable de la nervation noire des crucifères, et certaines souches bactériennes associées aux graines de radis a été estimé.

De manière générale, ces prédictions indiquent un degré de partage des ressources nutritives inférieur à 50 % entre *Xcc* et les souches bactériennes analysées, ce qui limiterait les phénomènes de compétition entre ces bactéries. Toutefois quelques souches de *Stenotrophomonas rhizophila*, appartenant à la même famille taxonomique que *Xcc*, possèdent un degré de partage plus important. Des tests de confrontations pour les ressources entre *Xcc* et *S. rhizophila*, réalisés sur des exsudats de graine de radis, ont démontré une diminution de la taille de population de *Xcc* lors de l'interaction avec ces souches.

La bactérie *S. rhizophila* est un candidat prometteur pour diminuer la charge bactérienne de *Xcc* et ainsi limiter sa fréquence de transmission aux graines de radis. Des expériences complémentaires doivent maintenant être réalisées pour comprendre comment *S. rhizophila* se transmet aux graines de radis.

Partenaires : cette étude a été menée par l'unité IRHS (Angers) en collaboration avec le laboratoire national Oak Ridge (Oak Ridge, Tennessee, USA), l'institut technologique autrichien (AIT, Vienne, Autriche) et la plateforme génomique GeT-PlaGe (Toulouse).

Publications associées : Torres-Cortes et al., 2019, Differences in resource use lead to coexistence of seed-transmitted microbial populations, *Scientific Reports*, 9(6648). DOI:10.1038/s41598-019-42865-9.

Contact : Matthieu Barret, UMR IRHS, matthieu.barret@inrae.fr

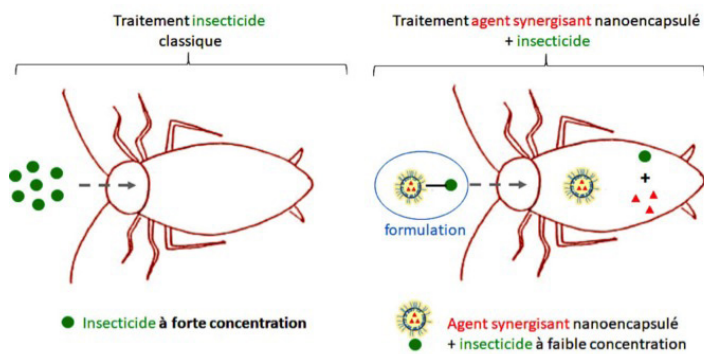
Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Un insecticide dopé par un agent synergisant nanoencapsulé

Optimiser l'effet du traitement tout en réduisant les doses



L'utilisation non raisonnée d'insecticides depuis quelques décennies a des conséquences non seulement sur l'environnement et la santé humaine mais aussi sur le développement de résistances chez les insectes ravageurs des cultures. Le plan Ecophyto II+ recommande une réduction et une amélioration de l'utilisation des produits phytosanitaires et motive le développement de méthodes de lutte innovantes.

Une des voies de réduction des doses de molécules insecticides est d'améliorer l'efficacité des traitements. L'objectif de cette étude consiste à optimiser l'effet insecticide d'une molécule chimique. Cette optimisation peut se faire par :

- Par l'association de la molécule chimique à un agent synergisant
- Par la formulation de cet agent synergisant sous forme de nanoparticules.

L'utilisation de la deltaméthrine nanoencapsulée comme agent synergisant de l'indoxa-

carbe (un insecticide oxadiazine) permet d'augmenter l'efficacité du traitement.

Lors de cette étude, il a été montré que cet effet synergique s'explique par l'augmentation de la concentration de calcium intracellulaire, induite par la deltaméthrine. Par ailleurs, la nanoencapsulation de l'agent synergisant le protège contre les enzymes de détoxification exprimées par l'insecte et permet ainsi d'optimiser l'effet synergique des deux molécules chimiques.

L'effet synergique obtenu avec la deltaméthrine nanoencapsulée est plus important que celui des formulations classiques d'insecticides couramment utilisées en agriculture avec des synergistes tels que le piperonyl butoxide (PBO) et permet de réduire les doses d'indoxacarbe utilisées dans le traitement.

Partenaires : cette étude a été réalisée par l'unité SiFCIR (Angers) en partenariats avec le National Secretariat of Science, Technology and Innovation (SENACYT), Government Authority of the Republic of Panama, Merck Animal Health, Madison, USA et le laboratoire MINT à Angers pour la fabrication des nanocapsules.

Publications associées : Pitti Caballero J, Murillo L, List O, Bastiat G, Flochlay-Sigognault A, Guerin F, Lefrançois C, Lautram N, Lapied B, Apaire-Marchais V. (2019). Nanoencapsulated deltamethrin as synergistic agent potentiates insecticide effect of indoxacarb through an unusual neuronal calcium-dependent mechanism. *Pest. Biochem. Physiol.* DOI: 10.1016/j.pestbp.2019.03.014.

Contact : Véronique Apaire-Marchais, USC SiFCIR, veronique.marchais@univ-angers.fr

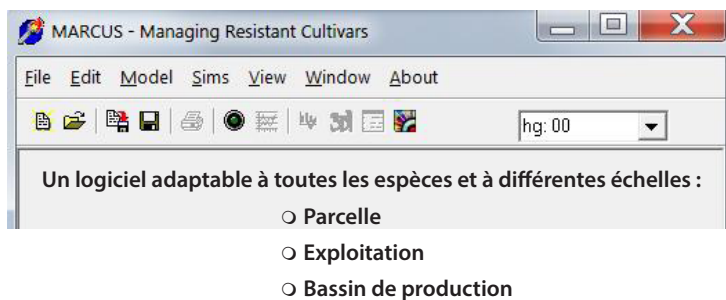
Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Logiciel MARCUS : simulation de la dispersion d'une maladie dans un paysage

Gérer les maladies par la diversification des cultures annuelles et pérennes



Le plan Ecophyto 2018 nous pousse à chercher les méthodes de lutte contre les maladies des cultures permettant de diminuer la quantité de produits phytosanitaires. Une des stratégies est d'utiliser des mélanges de variétés ayant différents niveaux de résistance aux bioagresseurs.

Pour concevoir un mélange efficace (nombre des variétés, ratio entre les variétés, patron spatial de plantation), il faut prendre en compte plusieurs facteurs : la surface cultivée, le taux de dispersion des maladies, son efficacité d'infection sur chaque variété etc.

Le moyen le plus naturel pour gérer une telle complexité est de développer un logiciel basé sur un modèle mathématique.

Le logiciel MARCUS (MAnagement of Resistant CultivarS) simule la dispersion d'une maladie dans un paysage en deux-dimensions en prenant en compte l'intensité de son interaction avec chaque variété constituant le paysage. Le logiciel permet donc de construire des paysages défavorables à la dispersion des maladies. Le logiciel peut être utilisé pour la gestion des maladies par la diversification des cultures (mélanges variétaux et associations de cultures) en cultures annuelles et pérennes.

L'outil aide un utilisateur à concevoir les mélanges les plus efficaces pour diminuer la sévérité des maladies et ainsi diminuer significativement la quantité des traitements chimiques. La figure 1b montre qu'un mélange optimisé de trois variétés de pommier à cidre entraîne une réduction de tavelure sur la variété sensible Judor de 23 à 50% selon les années (aucun traitement anti-tavelure de 2012 à 2016).

Partenaires : le logiciel MARCUS a été développé par l'UMR IRHS.

N°APP : IDDN.FR.001.280009.000.R.P.2009.000.30100.

Contact : Natalia Sapoukhina, UMR IRHS, natalia.sapoukhina@inrae.fr

Recherche fondamentale
et appliquée

Recherche avancée
et démonstration

Qualification et opérationnalité
technologique

Les unités de recherche et expérimentale INRAE Pays de la Loire

en lien avec la santé des plantes

IRHS – Institut de Recherche en Horticulture et Semences

INRAE – AGROCAMPUS OUEST – UNIVERSITÉ D'ANGERS

GRAPPE – Groupe de Recherche en Agroalimentaire sur les Produits et les Procédés

INRAE – ESA

LEVA – Légumineuses, Écophysiologie Végétale, Agroécologie

INRAE – ESA

SIFCIR – Signalisation Fonctionnelle Canaux Ioniques & Récepteurs

INRAE – UNIVERSITÉ D'ANGERS

HORTI – Unité expérimentale Horticole

INRAE



UMR1345

Institut de Recherche en Horticulture et Semences (IRHS)

Mission et objectifs

L'unité rassemble les expertises de généticiens/génomistes, phytopathologistes, physiologistes/éco-physiologistes, biochimistes, moléculistes, bioinformaticiens et biophysiciens au service de la qualité et santé des espèces horticoles et de la production de semences. Sa mission est d'ouvrir au développement de systèmes de production performants, sains et durables pour ces filières à vocation tant alimentaire qu'ornementale. Elles se caractérisent par des modes de production intensifs, implantés en milieu rural, périurbain et urbain.

Depuis sa création, le laboratoire a beaucoup investi sur le développement d'approches émergentes, telles que génomique, métagénomique, épigénomique, bioinformatique et phénotypage haut-débit pour aller vers une biologie prédictive et renforcer ses capacités d'innovation.

Direction

Jean-François Renard, directeur

Quelques chiffres

- 71 chercheurs et enseignants-chercheurs
- 19 post-doctorants et aides
- 31 doctorants et post-doctorants
- 57 ingénieurs
- 73 techniciens et administratifs
- 3 centres de ressources biologiques INRAE
- 1 plateforme de phénotypage
- 9900 m² de laboratoire
- 9700 m² de serres et tunnels
- 340 m² de serres climatiques



Photos: INRAE

Trois axes de recherches structurent les études de l'unité IRHS :

- Qualité des cultures horticoles ;
- Santé des plantes ;
- Qualité des semences.



Centre
Pays de la Loire



42 rue Georges Morel, CS 60057
49071 Beaucazoué Cedex
Tél. : + 33 (0)2 41 22 56 00
secretariat-irhs@inra.fr
www.angers-nantes.inra.fr/irhs



USC1422

Groupe de Recherche en Agroalimentaire sur les Produits et les Procédés (GRAPPE)

Mission et objectifs

La problématique de l'unité porte sur l'évaluation de la qualité des produits, la construction de la qualité des produits en lien avec la perception des experts et consommateurs et la co-conception de produits à qualité différenciée tout au long de leurs chaînes de valeurs.

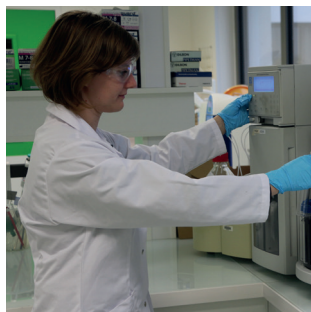
Son originalité repose sur une approche multicritères de l'évaluation de la qualité, combinant des mesures instrumentales physico-chimiques croisées à une évaluation sensorielle ou hédonique. En complément, et pour s'inscrire dans la logique de systèmes alimentaires durables, l'unité développe des méthodes innovantes et de nouveaux indicateurs pour évaluer conjointement la qualité des produits et les impacts environnementaux associés à leur production et transformation.

Direction

Pierre Picouet, directeur

Quelques chiffres

- 12 enseignants-chercheurs dont 1 maître de conférences associée
- 4 HDR
- 5 ingénieurs
- 10 techniciens et administratifs
- 7 doctorants
- 4 post-doctorants
- 920 m² de laboratoires répartis sur les 2 sites



Photos: @INRAE



Centre
Pays de la Loire



55 Rue Rabelais F - 49007 Angers
42 rue Georges Morel,
CS 60057 F - 49071 Beaucouzé Cedex
Tél. : +33 (0)2 41 23 55 55
P.Picouet@groupe-esa.com
www.groupe-esa.com/unite-de-recherche-en-agroalimentaire-sur-les-produits-et-les-procedes-grappe-224.kjsp



USC1432

Légumineuses, Ecophysiologie Végétale, Agroécologie (LEVA)

Mission et objectifs

Forte de compétences en agronomie, écophysiologie des végétaux, biologie des sols et statistiques, l'équipe pluridisciplinaire développe des questions de recherche visant à la conception d'associations de cultures incluant des légumineuses répondant aux enjeux de mutation de l'agriculture vers des systèmes de culture moins dépendants des intrants (engrais synthétiques et pesticides) et plus résilients face aux aléas (climat, volatilité des coûts des intrants...).

Les travaux de l'unité LEVA se situent à deux niveaux :

- Étude des interactions entre espèces végétales et au sein du système plante(s)-sol, liées à la gestion des ressources en azote et du rayonnement dans les associations incluant des légumineuses.
- Conception et conduite d'associations de cultures en vue de valoriser les fonctions écologiques des légumineuses en services pour (et par) les agriculteurs (rendement, qualité des récoltes, gestion de l'azote et fertilité des sols, et contrôle des adventices).

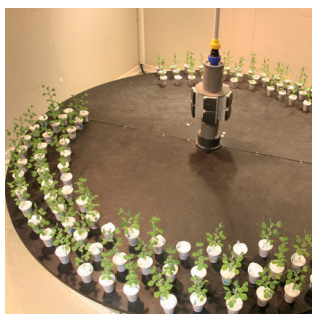
Les travaux concernent surtout les grandes cultures et les systèmes de productions de semences à haute valeur ajoutée

Direction

Joëlle Fustec, directrice

Quelques chiffres

- 10 enseignants-chercheurs dont 2 HDR
- 3 ingénieurs
- 4 techniciens et administratifs
- 3 doctorants
- 405 m² de laboratoires
- 1 serre
- 1 chambre climatique
- 2 sites



Photos : @INRAE



Centre
Pays de la Loire



55 Rue Rabelais
F - 49007 Angers Cedex 01
42 rue Georges Morel,
CS 60057 F - 49071 Beaucozuté Cedex
Tél. : +33 (0)2 41 23 55 55
j.fustec@groupe-esa.com
<http://leva.groupe-esa.com>



USC1330

Signalisation Fonctionnelle Canaux Ioniques & Récepteurs (SIFCIR)

Mission et objectifs

Le laboratoire étudie le mode d'action des insecticides neurotoxiques, par des approches électrophysiologiques, cellulaires, moléculaires et toxicologiques.

L'objectif est d'une part d'optimiser l'efficacité des produits phytosanitaires tout en réduisant les doses et d'autres part de développer de nouvelles stratégies afin de limiter et de contourner les phénomènes de résistance mis en place par les insectes nuisibles.

L'orientation des recherches se décline en 3 champs thématiques :

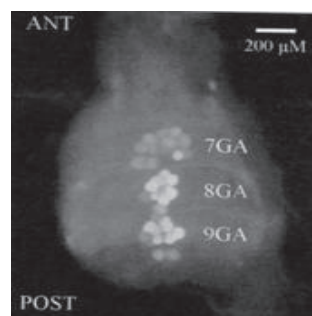
- L'étude des facteurs cellulaires et moléculaires impliqués dans l'efficacité des insecticides ;
- L'étude de l'impact cellulaire et moléculaire des phénomènes de résistance sur la sensibilité des cibles aux insecticides ;
- L'utilisation de micro-organismes et de substances chimiques comme facteurs de synergie des insecticides.

Direction

Valérie Raymond, directrice

Quelques chiffres

- 5 professeurs et enseignants-chercheurs
- 2 ingénieurs
- 3 techniciens et administratifs
- 2 doctorants



Photos ©INRAE



Centre
Pays de la Loire



UFR Sciences, université d'Angers
 2 Boulevard Lavoisier F - 49045 Angers
 Tél. : +33 (0)2 41 73 50 70
valerie.raymond@univ-angers.fr



UE449

Horticole (HORTI)

Mission et objectifs

L'unité Horticole est un domaine multisites de 107 ha (82 ha de SAU) s'étendant sur 4 communes du Maine-et-Loire, dans un rayon de 25 kilomètres.

Les essais mis en place concernent les genres *Malus* (pommier), *Pyrus* (poirier), *Cydonia* (cognassier), *Prunus* (pêchers, abricotiers, cerisiers), *Rosa*, *Forsythia*, *Lonicera*, Clématis, quelques genres de la tribu des *Genisteae*, etc.

Les activités de l'unité consistent à :

- Préparer le matériel végétal (greffage, écussonnage, semis en pépinière)
- Mettre en place les cultures (assolement, préparation des sol, drainage, irrigation, palissage, filet paragrêle, plantation...)
- Conduire les vergers (taille, éclaircissage, désherbage, suivi et traitements phytosanitaires, récoltes...)
- Noter et phénotyper les essais (en parcelles : relations hôte/bioagresseurs, incidence et sévérité des attaques, notation des stades phénologiques, floribondité... A la récolte : calibrage et caractérisation des fruits : maladies, qualité, maturité...)
- Arracher les dispositifs et remettre en état les parcelles.

Direction

Arnaud Lemarquand, directeur

Quelques chiffres

- 2 ingénieurs
- 16 techniciens et administratifs
- 2 sites : Bois l'Abbé et la Rétuzière
- 82 ha de surface agricole
- 53 ha en expérimentation (cultures pérennes)
- 160 parcelles et essais
- 65 000 arbres en parcelles
- 30 000 plants (semis, greffes et écussons) en pépinière



Photos : ©INRAE

Le pilotage des vergers et expérimentations se fait par le biais d'observations mais aussi de modèles tournant sur 3 stations météorologiques implantées sur les 2 sites. De plus l'unité est équipée de sondes capacitatives et tensiométriques permettant un pilotage fin des expérimentations (e.g. essai porte-greffe résistant à la sécheresse). Un piège à spores permet de relever les dates d'émissions de spores de tavelure et l'intensité relative de ces émissions. En complément l'ensemble d'un des 2 sites a été caractérisé agronomiquement dans le cadre du projet CAREX (Caractérisation des unités expérimentales de l'INRAE).



Centre
Pays de la Loire



42 rue Georges Morel, CS 60057
49071 Beaucozé Cedex
Tél. : + 33 (0)2 41 22 56 00
sylviane.hameline@inrae.fr
www.angers-nantes.inrae.fr/horti



Centre Pays de la Loire
42 rue Georges Morel
49070 Beaucouzé
Tél. : +33 1 (0)2 41 22 56 00

Rejoignez-nous sur :



www.inrae.fr/centres/pays-loire

**Institut national de recherche pour
l'agriculture, l'alimentation et l'environnement**

INRAE

la science pour la vie, l'humain, la terre