



Bases moléculaires de l'interaction R-Avr dans le pathosystème forestier modèle *Populus-Melampsora* à travers une approche de biologie intégrative

Responsable scientifique : Sébastien DUPLESSIS (UMR 1136 Interactions Arbres/Micro-organismes)

Partenaires Labex : Pascal Frey, Fabien Halkett, Stéphane De Mita (UMR 1136 IAM, Equipe Ecologie), Arnaud Hecker, Nicolas Rouhier (UMR 1136 IAM, Equipe Ingénierie protéique)

Collaborations : US DoE Joint Genome Institute (Igor Grigoriev's team) ; Sophien Kamoun (The Sainsbury Lab, Norwich, UK) ; Karine de Guillen & André Padilla (Centre de Biochimie Structurale de Montpellier, INSERM U1054/CNRS UMR5048) ; Fabrice Neiers (Centre des Sciences du Goût et de l'alimentation, AgroSup Dijon CNRS INRA Université de Bourgogne).

Contexte — Les dégâts considérables causés par les agents de rouille impactent fortement la productivité de nombreux agrosystèmes dont la populiculture et il apparaît urgent de comprendre les mécanismes d'interaction entre hôtes et champignons pour établir des méthodes de lutte durable. Nos connaissances de la biologie des agents de rouilles restent encore limitées, particulièrement du fait de leur statut de parasite biotrophe obligatoire, qui complique le développement d'approches fonctionnelles. Avec les récents progrès de la génomique, il est désormais possible de disséquer des caractères génétiques complexes chez des espèces non modèles. La disponibilité des séquences des génomes du peuplier *Populus trichocarpa* et de la rouille foliaire du peuplier *Melampsora larici-populina* est une réelle opportunité pour décrypter les mécanismes d'interaction arbre-champignon biotrophe.

Objectifs — Etudier les mécanismes d'interaction entre déterminants moléculaires responsables de la résistance (gènes *R*) chez le peuplier et de la virulence (molécules effectrices, gènes *Avr*) chez le champignon *M. larici-populina*.

Démarche — Nous proposons de développer une approche de biologie intégrative couplant génomique des populations, génomique fonctionnelle et biochimie des protéines pour identifier des déterminants majeurs de la virulence et valider l'interaction entre protéines R et AVR.

Résultats marquants —

- Les génomes de 88 isolats de *M. larici-populina* issus d'une large collection constituée sur plus de 20 ans en France autour d'un évènement majeur de contournement de résistance à la rouille ont été séquencés en collaboration avec le Joint Genome Institute. Le polymorphisme de type SNP (Single Nucleotide Polymorphism) a été recherché dans ces génomes par comparaison au génome de référence de l'isolat 98AG31. La structure des populations ciblées et les évènements démographiques liés à l'émergence de la virulence 7 chez *M. larici-populina* ont été précisés par une approche de génétique des populations.
- Sur la base de la connaissance de la structure populationnelle, une approche de Genome Scan a pu être appliquée pour identifier les régions génomiques sous sélection possiblement associées à l'évènement d'émergence de la virulence 7.
- Différentes pistes ont été explorées pour enrichir notre panel d'approches pour réaliser l'analyse fonctionnelle des effecteurs candidats mis à jour à travers 3 collaborations : expression transitoire d'effecteurs de *M. larici-populina* fusionnés à des marqueurs fluorescents dans le système végétal hétérologue *Nicotiana benthamiana* en collaboration avec The Sainsbury Laboratory en Angleterre, expression de protéines recombinantes chez *Pichia pastoris* en collaboration avec l'Université de Bourgogne et analyse structurale d'effecteurs par RMN en collaboration avec l'INSERM/CNRS de Montpellier.

Principales conclusions incluant des points-clés de discussion — L'analyse de génomique populationnelle et de Genome Scan permet d'identifier les régions génomiques sous sélection liées à l'émergence de la virulence 7, contenant un set limité de gènes candidats restant à tester.

Perspectives — Les gènes candidats mis à jour par l'approche populationnelle seront étudiés plus en détails dans les 2 ans à venir (expression lors de l'interaction avec la plante hôte) afin de déterminer le ou les gènes candidats associés à la virulence. Les protéines recombinantes correspondant aux gènes les plus prometteurs vont être produites et seront infiltrées dans des peupliers porteurs de la résistance 7 pour valider l'interaction R-Avr (réaction d'hypersensibilité). En cas de succès, la fonction de la protéine fongique sera étudiée plus avant (localisation, cible chez l'hôte) et la protéine de résistance correspondante sera recherchée chez le peuplier par une approche de co-immunoprécipitation. Les collaborations établies avec différents partenaires dans ce projet, nous permettront de progresser dans notre compréhension du rôle des effecteurs candidats révélés par l'approche populationnelle.

Publications

Persoons A, Morin E, Delaruelle C, Payen T, Halkett F, Frey P, De Mita S, Duplessis S (2014) Patterns of genomic variation in the poplar rust fungus *Melampsora larici-populina* identify pathogenesis-related factors. *Frontiers in Plant Science* 5: 450. doi:10.3389/fpls.2014.00450.

Petre B, Saunders DGO, Sklenar J, Lorrain C, Win J, Duplessis S, Kamoun S (2015) Candidate effector proteins of the rust pathogen *Melampsora larici-populina* target diverse plant cell compartments. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 28:689-700. doi: 10.1094/MPMI-01-15-0003-R.

Petre B, Lorrain C, Saunders DGO, Win J, Sklenar J, Duplessis S, Kamoun S (2015) Rust fungal effectors mimic host transit peptides to translocate into chloroplasts. *Cellular Microbiology* 18:453-465. doi: 10.1111/cmi.12530.

Persoons A, Halkett F, Duplessis S, De Mita S. Demographic and genomic consequences of a major event of adaptation in the pathogenic fungus *Melampsora larici-populina*. Manuscript in preparation.

Chapitres d'ouvrage

Aime MC, McTaggart AR, Mondo SJ, Duplessis S (2017) Phylogenetics and phylogenomics of rust fungi. *Advances in Genetics* Vol. 99: In Press.

Duplessis S, Bakkeren G, Joly, DL, eds. (2016) Genomics Research on Non-model Plant Pathogens: Delivering Novel Insights into Rust Fungus Biology. Lausanne: Frontiers Media. doi: 10.3389/978-2-88919-814-6.

Duplessis S, Bakkeren G, Hamelin R (2014) Advancing knowledge on biology of rust fungi through genomics. *Advances in Botanical Research* 70:173-209.

Présentations

Antoine Persoons. Identification d'effecteurs de *Melampsora larici-populina* par une approche originale de la génomique des populations à la génomique fonctionnelle. Présentation orale lors des Rencontres de Phytopathologie-Mycologie de la SFP, Journées Jean Chauvaugéon à Aussois (Janvier 2014).

Persoons A, Morin E, Delaruelle C, Payen T, Halkett F, Frey P, De Mita S, Duplessis S. Patterns of genomic variation in the poplar rust fungus *Melampsora larici-populina* identify pathogenesis-related factors. Présentation orale lors de l'INRA Nancy and MPI Marburg interdepartmental workshop on plant-fungus interactions, INRA Nancy (**Novembre 2014**).

Persoons A, Halkett F, De Mita S, Duplessis S. Identification of candidate effectors in the poplar rust fungus *Melampsora larici-populina* through a population genomics approach. Présentation orale lors de la 25th Fungal Genetics Conference à Asilomar, Etats-Unis (**Mars 2015**).

Duplessis S. *Melampsora larici-populina* genomics. Présentation orale lors du Fungal Genomics Workshop du Joint Genome Institute à Walnut Creek, Etats-Unis (**Mars 2015**).

Duplessis S. The poplar-poplar rust interaction : it's all about perception and manipulation! Séminaire invité de la SFR de Biologie Intégrative et Ecologie, INRA Villenave d'Ornon (**Septembre 2015**).

Duplessis S. The poplar-poplar rust interaction : it's all about perception and manipulation! Présentation orale lors de l'INUPRAG: INRA/UPSC/CRAG meeting on Plant Integrative Biology, Nancy, France (**Octobre 2015**).

De Mita S, Halkett F, Frey P, Duplessis S. Update on *Melampsora larici-populina* genomics. Présentation orale lors des 11èmes Rencontres de Phytopathologie-Mycologie de la Société Française de Phytopathologie, JJC2016, Aussois (**Janvier 2016**).

De Mita S, Halkett F, Frey P, Duplessis S. Update on *Melampsora larici-populina* genomics. Poster présenté lors 13th European Conference on Fungal Genetics, ECFG13, Paris (**Avril 2016**).

Autre

Persoons A. Les contournements de résistance par *Melampsora larici-populina*, l'agent de la rouille du peuplier : impact démographique et déterminisme génétique. Thèse de Doctorat en Biologie Végétale et Forestière de l'Université de Lorraine (soutenue en **décembre 2015**).

Effet levier du projet

Le succès de la collaboration établie avec le *Joint Genome Institute* dans le cadre du projet *Integrarust* a très certainement eu un effet levier sur le projet *Rust pangenomics* accepté en 2017 dans le cadre de l'AAP international *Community Science Programme* 2018 du JGI sur le thème de la génomique comparative des rouilles.

Liens : <https://jgi.doe.gov/our-projects/csp-plans/approved-proposals-fy18/>
<https://jgi.doe.gov/csp-2018-duplessis-reference-genomes-50-rust-fungi/>