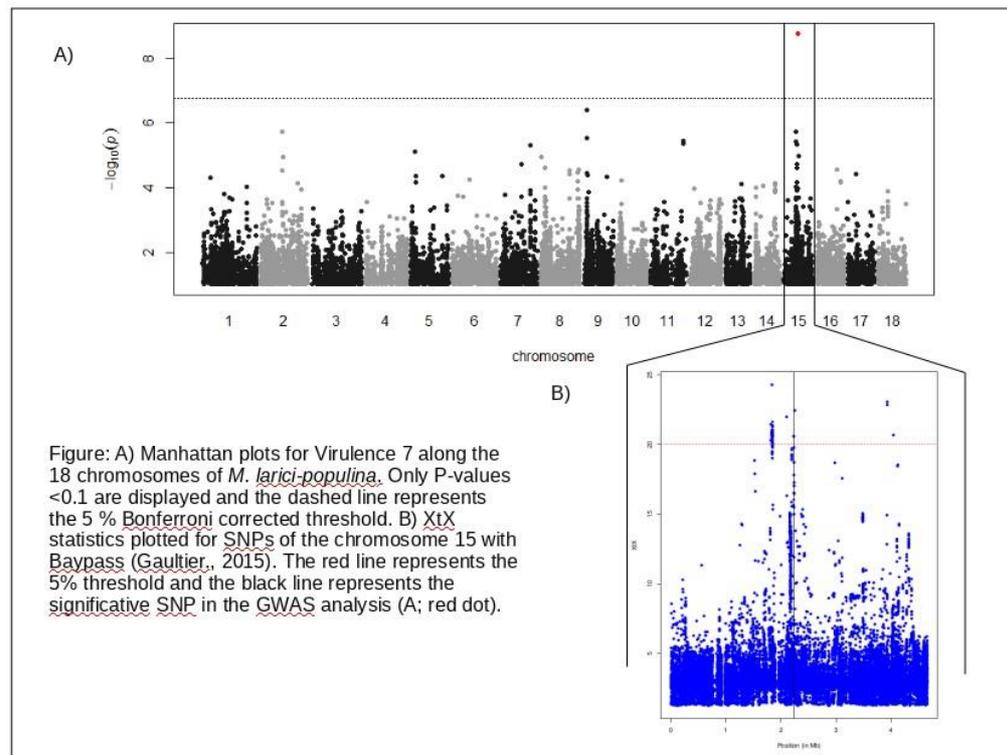




VIP



Recherche et caractérisation d'un gène d'avirulence chez le pathosystème Peuplier-Rouille du Peuplier : d'une approche de génomique des populations à la caractérisation protéique d'un facteur de virulence responsable du contournement de la résistance *RMIp7*

Responsable scientifique : Fabien HALKETT, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM)

Avec la collaboration de : Stéphane De Mita, Benjamin Pêtre, Pascal Frey et Sébastien Duplessis (UMR IAM)

Action thématique concernée : WP1

Contexte – L'agent de la rouille du peuplier, *Melampsora larici-populina* est une menace majeure en populiculture. Ce champignon pathogène a contourné toutes les résistances qualitatives (notées R1 à R8) déployées jusqu'à présent. L'évènement le plus remarquable s'est produit en 1994 avec le contournement de la résistance R7. Cet évènement a conduit à l'invasion de l'Europe de l'Ouest par une population virulente 7 (c'est-à-dire capable d'infecter des cultivars de peuplier porteur de la résistance R7) en remplacement des populations pathogènes pré-existantes (Persoons et al., 2017).

Objectifs – L'objectif principal du projet est d'identifier le déterminisme génétique de la virulence 7. L'évolution moléculaire des interactions hôte-pathogène suit un modèle gène pour gène où deux loci spécifiques interagissent l'un avec l'autre (Flor, 1971). Un changement génétique à l'un des loci incriminés peut induire la perte de reconnaissance coté plante, et donc conduire à un gain de virulence coté champignon. L'objectif est ici d'identifier au sein du génome de *M. larici-populina* le locus ainsi que les changements génétiques responsable du contournement de la R7.



Démarche – Le scénario évolutif lié au contournement de la R7 offre une situation idéale pour identifier les déterminants moléculaires de cette adaptation, notamment grâce à l'intensité de l'évènement de sélection et à son histoire contemporaine qui nous a permis d'avoir accès à des ressources génomiques sur des individus collectés avant, pendant et après ce contournement. Nous avons utilisé une approche de génomique des populations qui permet par balayage de détecter des régions spécifiques des génomes d'une certaine population (ici la population virulente). Cette méthode est basée sur une combinaison de tests de neutralité conçus pour détecter les biais de fréquences alléliques induits par la fixation rapide et récente d'un mutant (balayage sélectif) dans la population virulente 7 en particulier. Les résultats ont ensuite été comparés à une analyse d'association pan-génomique (GWAS) testant explicitement le lien entre les profils de virulence et le polymorphisme SNP afin d'identifier le locus candidat à la virulence 7.

Résultats marquants –

- Le scan du génome basé sur la structure de la population a identifié plusieurs SNPs présentant des valeurs significatives sur le chromosome 15 et qui pourraient être liés à la virulence 7.
- L'analyse GWAS confirme l'un de ces SNP sur le chromosome 15 et le localise dans un exon d'un gène.
- Ce gène d'virulence candidat possède certaines caractéristiques des effecteurs canoniques (codant une protéine riche en cystéine, spécifique à *M. larici-populina*, exprimé précocement et de fonction inconnue), et posséderait un signal de sécrétion mais non-conventionnel.
- De façon plus remarquable : deux mécanismes indépendants mais complémentaires seraient responsables de la virulence 7 : un SNP non synonyme et une délétion du locus.

Principales conclusions incluant des points-clés de discussion – Le scan du génome et le GWAS pointent tout deux vers le même locus, renforçant son statut de gène candidat et valident l'utilisation conjointe des deux méthodes (avec ou sans a priori). Comme l'analyse du génome se concentre sur la structure de la population et le GWAS sur le phénotype de chaque isolat analysé, nous nous assurons que le gène candidat explique à la fois le changement évolutif majeur chez cette espèce et est également responsable de l'évolution du phénotype qui a été observé chez *M. larici-populina* après le contournement R7. À notre connaissance, c'est le premier cas chez un organisme diploïde où un contournement de résistance peut s'expliquer par deux mécanismes différents (une délétion et un SNP non synonyme) sur le même effecteur candidat. Pour un organisme diploïde, ce double déterminisme permet d'augmenter sensiblement la probabilité d'être phénotypiquement virulent car chaque allèle de virulence pris indépendamment est récessif.

Perspectives – Notre étude permettrait d'identifier le premier gène d'virulence chez cette espèce fongique biotrophe obligatoire. L'approche par mutagénèse étant particulièrement délicate chez cette espèce nous nous orientons vers la production de protéine correspondante et le test de l'interaction en système hétérologue.

Valorisation scientifique :

- Présentation lors du congrès MPMI 2019.
- Deux publications ont été rédigées et seront soumises très prochainement.
- Un chapitre d'ouvrage vulgarisant les travaux sur la rouille du peuplier vient de paraître dans le livre *Immunité des Plantes* aux éditions QUAE (ISBN 2759232336)

Effet levier du projet

Le projet VIP a servi de point de départ des thèses de Clémentine LOUET (caractérisation du locus d'virulence) et Méline SAUBIN (Analyse Eco-évolutive de la durabilité des résistances) et de catalyseur pour le dépôt du projet ANR ENDURANCE (premier dépôt en 2020 rejeté, resoumis cet automne à l'aapg 2021).